(Aus dem Laboratorium für Experimental — Pathologie der Medizinischen Fakultät in Paris: Prof. Dr. A. Lemaire)

Die Wirkung von Aceton auf den Blutzuckergehalt der Ratte

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Hans Ehrsam

von Gempen (Sol.)

Basel 1949

Imprimerie «Union» — 35, rue des Trois-Rois — Mulhouse

1950

Von der
Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag
von Herrn Professor Dr. A. Gigon

Tag der Promotion: 22. Dezember 1949

R.I.M.N.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Je dois tout d'abord apporter mon hommage et ma reconnaissance :

à Monsieur le Professeur André LEMAIRE

pour l'extrême bonté qu'il eut de m'admettre comme assistant étranger dans son service de l'Hôpital Saint-Antoine à PARIS, où il me fit profiter de son savoir universel, ce qui me permit de ramener certaines idées nouvelles dans mon pays.

Je ne dois pas oublier non plus que c'est lui qui m'a suggéré ce travail ;

à Monsieur le Professeur Alfred GIGON de l'université de BALE,

qui a bien voulu s'intéresser à mon travail et le présenter à la Faculté comme thèse;

au Docteur Paul CASTAIGNE, Médecin assistant des Hôpitaux de PARIS et chef des travaux pratiques du Laboratoire de Pathologie Expérimentale,

pour l'aide théorique et pratique, dont j'ai tant bénéficié pendant l'exécution de ce travail;

à Monsieur Maurice HERBAIN, Docteur en pharmacie, assistant du Laboratoire de Pathologie Expérimentale à la Faculté de PARIS,

qui m'a autorisé à employer pour la première fois son microdosage du sucre sanguin, sans quoi je n'aurais pas pu réaliser ces expériences.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544315_0064

Einleitung

Man hat gelegentlich bei Vergiftungen durch Aceton beim Menschen auffällige Schwankungen des Blutzuckergehaltes festgestellt. Es schien uns interessant, zu untersuchen, ob diese Erscheinungen auch auf experimentellem Wege erzeugbar sind. Eine solche Untersuchung scheint bis jetzt noch nicht systematisch unternommen worden zu sein.

MARKEES und MENCZER haben mitgeteilt, dass sie beim Kaninchen hyperglykämische Reaktionen nach peroraler Acetongabe beobachtet hätten, wenn das Tier vorher mit Glukose gesättigt worden ist. (1). Die Autoren berichten ausführlich über die Wirkungen der Einverleibungen der Natriumsalze der Betaoxybuttersäure und Capronsäure (2), dann dieser Säuren selbst und verschiedener anderer Säuren (1, 3, 4); sie teilen aber keine systematischen Beobachtungen mit, welche das Aceton im Speziellen betreffen.

VALDIGUIE in seiner ausführlichen Abhandlung über den Stoffwechsel der Ketonkörper (5) berichtet von vier Experimenten, in denen er beim Hund den Blutzucker nach intravenöser Acetongabe bestimmt hat. Er findet in zwei Fällen eine Erhöhung, in zwei weiteren aber keine Veränderung des Blutzuckers und kann dementsprechend daraus keine Schlussfolgerungen ziehen.

Unter diesen Bedingungen haben wir es unternommen, das Problem systematisch zu bearbeiten.

Arbeitsplan

Versuchstiere: Weisse Ratten, Männchen und Weibchen, von 80 bis 280 Gramm Gewicht.

Blutentnahme aus der Schwanzspitze und Acetonverabreichung mit einer Oesophagussonde auf übliche Art.

Blutzuckerbestimmung nach der Mikromethode *Herbain-Castaigne* (6, 7; siehe Anhang).

Im allgemeinen wurde der Blutzucker im Doppel unmittelbar vor der Acetonverabreichung bestimmt, dann fortlaufend während drei und mehr Stunden nach der Acetongabe, meistens am Ende einer Viertel-

stunde, einer halben Stunde, einer Stunde, zwei Stunden und manchmal drei Stunden.

Die Acetondosis schwankte zwischen 1 bis 5 Gramm pro Kilogramm Körpergewicht des Tieres.

Das Aceton wurde 1 : 1 mit Wasser verdünnt durch die Oesophagussonde gegeben und diese am Schluss mit 1/2 ccm Wasser gespült. Die einverleibte Flüssigkeitsmenge war nie grösser als 10 Gramm pro Kilogramm Körpergewicht der Ratte.

Die für einzelne Experimente angewandten besonderen Massnahmen werden wir an Ort und Stelle beschreiben.

Resultate

Wir werden unsere Resultate in der folgenden Reihenfolge mitteilen: Zuerst werden wir zeigen, dass bei der Ratte eine Hyperglykämie nach Acetonverabreichung tatsächlich auftritt und dass diese Hyperglykämie wirklich auf das Aceton zurückzuführen ist. Dann werden wir im Besonderen unsere Resultate besprechen und vergleichen, welche wir bei glukosegesättigten, bei nüchternen, bei nebennierenlosen und endlich bei phlorrhizinvergifteten Ratten gefunden haben.

A. *Die Existenz eines Blutzuckeranstiegs nach oraler Acetongabe*

Das wirkliche Vorhandensein dieser Hyperglykämie soll zunächst demonstriert werden an 37 Ratten, welche unter verschiedenen experimentellen Bedingungen gehalten wurden, die wir später noch genauer beschreiben werden. Der Blutzucker wurde sofort vor der Acetonangabe bestimmt, dann im Verlauf der drei folgenden Stunden. Wir verwerten hier für die Berechnung des Mittels nur die Blutzuckerwerte vor der Acetongabe und den gefundenen Maximalwert der drei folgenden Stunden.

Zahl der Tiere	Glykämie vor Aceton (Mittel)	Glykämie nach Aceton (Mittel)	Prozentualer Anstieg des Mittels
37	86 mg %	108 mg %	26 %
	$\sigma = 20$ MFM $= \pm 3$	$\sigma = 20$ MFM $= \pm 3$	

σ = Mittlerer Fehler jeder einzelnen Messung (*)
MFM = Mittlerer Fehler des arithmetischen Mittels (**)

*) $\sigma = \sqrt{\frac{\leqq d^2}{(n-1)}}$ **) $MFM = \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$

Die Blutzuckerbestimmungen vor und nach dem Aceton wurden jeweils am gleichen Tier vorgenommen. 33 von 37 Tieren, d. h. ca 90 Prozent, zeigten eine Hyperglykämie im Verlauf der drei Stunden, welche der Acetoneinverleibung folgten. Bei zwei Tieren blieb der Blutzuckergehalt unverändert, bei zwei weiteren ist er um 1 und 2,6 Prozent gesunken. Das arithmetische Mittel der prozentualen Blutzuckerschwankungen nach Acetongabe, welches nicht identisch ist mit der prozentualen Erhöhung des Mittels der Blutzuckerwerte, beträgt 27,5 Prozent mit einem σ von 19 und einem MFM von $\pm$ 3 Prozent.

Die Realität dieser Hyperglykämie wird überdies noch bekräftigt durch die Tatsache, dass wir die Blutzuckerbestimmungen vor und nach Aceton am gleichen Tier ausgeführt haben. Denn selbst wenn wir uns begnügt hätten, den Blutzucker einfach bei zwei gleichen Gruppen von Ratten zu bestimmen (Zuckerbestimmung bei der einen Serie vor, bei der andern nach Acetoneinverleibung), so würden unsere gefundenen Werte immer noch mit Recht auf eine Blutzuckererhöhung schliessen lassen.

Die Berechnung von t nach der Formel von *Fisher* (*) ergäbe nämlich für zwei Gruppen von Ratten ein $t = 4$, welches bei 72 verglichenen Werten eine Wahrscheinlichkeit unterhalb 0,001 liefert. Wir dürfen also annehmen, dass wir eine solche zufällige Differenz zwischen den mittleren Blutzuckerwerten vor und nach Aceton auf tausend Fälle nicht einmal antreffen würden.

B. *Die festgestellte Hyperglykämie entspricht einer Erhöhung der zirkulierenden Blutzuckermenge*

Um möglichst keinen Interpretationsfehler zu begehen, haben wir zuerst noch zwei mögliche Fehlerquellen auszuschliessen versucht.

1. Hat das Aceton durch sein hohes Wasserverbindungsvermögen eventuell eine Bluteindickung verursacht, welche den Blutzucker nur scheinbar ansteigen lässt? Wir haben, um diese Frage zu beantworten, im Verlauf einiger Experimente das spezifische Gewicht des Blutes bestimmt. Wir verwendeten dazu eine Wägemethode, welche uns genügend genaue Werte für unsere Bedürfnisse lieferte. Wir haben bei einem Blutzuckeranstieg um 27 Prozent einen Anstieg der Dichte des Blutes von 1060 auf 1075 zu erwarten, wenn die Hyperglykämie wirklich durch einen Wasserverlust des Blutes verursacht würde. Einen derartigen Dichteanstieg konnten wir aber nie feststellen, im Gegenteil, das spezifische Gewicht sank etwas ab, aber so unbedeutend, dass wir dem nicht Rechnung tragen können.

Um vorerst zu prüfen, ob unsere Methode der Dichtebestimmung

$$* t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\frac{\left(\lesssim d_1^2 + \lesssim d_2^2\right) \times \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}{n_1 + n_2 - 2}}}$$

ähnliche Zahlen lieferte, wie sie im allgemeinen bei gesunden Ratten gefunden werden, haben wir einige Bestimmungen ausgeführt ohne Acetonverabreichung. Wir erhielten folgende Werte:

	Zeit	Dichte
Ratte Nr. 1		
	09 h. 30	1.056
	14 h. 30	1.052
	18 h. 30	1.054
Ratte Nr. 2		
	09 h. 30	1.057
	14 h. 30	1.059
	18 h. 30	1.065

Anschliessend fanden wir die gleichen physiologischen Schwankungen der Dichte auch nach der Acetonverabreichung:

Ratte Nr. 3, Weibchen, von 225 g; 4 g Aceton pro Kilogramm Körpergewicht per os.

Zeit nach Acetongabe	Dichte	Blutzucker mg %
0	1.060	117
15 min.	1.054	131
30 min.	1.055	155

Ratte Nr. 4, Weibchen, von 245 g. Subcutane Injection von 0,5 g Aceton pro Kilogramm Körpergewicht. Ausnahmsweise wurde hier der Blutzucker nach der Methode *Hagedorn-Jensen* bestimmt.

Zeit nach Acetongabe	Dichte	Blutzucker mg %
0	1.065	103
1 h. 30 min.	1.065	108
3 h.	1.061	112
5 h.	1.063	106
7 h. 15 min.	1.054	104

Wir dürfen unter diesen Umständen annehmen, dass die Dichte des Blutes nach der Acetongabe sich nicht wesentlich verändert und dass

somit eine Hämokonzentration als Ursache der Hyperglykämie auszuschliessen ist.

2. Eine weitere Fehlerquelle könnte darin bestehen, dass das zugeführte Aceton die Zuckerbestimmungsmethode beeinflusst. Um darüber Aufschluss zu bekommen, haben wir das folgende Experiment angestellt, das uns von jedem Zweifel in dieser Hinsicht befreit.

In der ersten Versuchsreihe haben wir exakt gemessene Mengen von menschlichem Blut, von reiner Glukose, von Blut + Glukose und endlich von Blut + Glukose + Aceton nach unserer Methode auf den Glukosegehalt untersucht. In einer zweiten Serie verwendeten wir exakt die doppelten Mengen. Auf diese Weise haben wir gleichzeitig auch die Präzision unserer Blutzuckerbestimmungsmethode prüfen können. Die Menge des eingeführten Acetons entspricht einer Acetonämie von 200 mg % für die erste Serie und einer Acetonämie von 400 mg % für die zweite Serie. *)

Die Tabelle I zeigt unsere Resultate.

Wir können nach Vergleichen dieser Zahlen in Tabelle 1 als sicher annehmen, dass der Acetongehalt des Blutes bei unserer Blutzuckerbestimmung keine Rolle spielt. Demnach ist erwiesen, dass die Hyperglykämie nach Acetongabe tatsächlich einer Erhöhung der zirkulierenden Blutzuckermenge entspricht.

Tabelle I

Serie 1				
Kölbchen Nr	enthält	$N - N_0$		Fehler
		Ablesung	Berechnet	
1	Blutglukose	72	—	—
2	Reine Glukose 4 Gamma	31	31	0 %
3	Blutglukose + 4 Gamma reine Glukose	102	103	1 %
4	Blutglukose + 4 Gama reine Glukose + 26 Gamma Aceton	103	103	0 %
Leerversuche der Serie 1: 181 und 182				

* VALDIGUIE (5) hat als Höchstwerte eine Acetonämie von 200 mg % festgestellt nach intravenöser Injektion von 2 ccm Aceton pro kg Hund.

Serie 2 (Doppelte Mengen)				
Kölbchen Nr	enthält	$N - N_o$ Ablesung	$N - N_o$ Berechnet	Fehler
1	Blutglukose (Doppelte Menge)	142	144	1,4 %
2	Reine Glukose 8 Gamma	64	62	3,2 %
3	Blutglukose + 8 Gamma reine Glukose	211	206	2,4 %
4	Blutglukose + 8 Gamma reine Glukose + 52 Gamma Aceton	209	206	1,45 %
Leerversuche der Serie 2: 178 und 179				

N = Intensität des Berlinerblau der untersuchten Flüssigkeit (ausgedrückt in Teilstrichen der Messtrommel des Elektrophotometers).

N_0 = Basisfärbung (Mittlerer Wert der Leerversuche).

$N-N_0$ = Reduktionskraft der untersuchten Flüssigkeit (hier gleich dem Gehalt der Flüssigkeit an Glukose).

C. *Die festgestellte Hyperklykämie ist auf das Aceton zurückzuführen*

Um sicher zu sein, dass das Aceton wirklich verantwortlich ist an der Blutzuckersteigerung, waren noch einige Experimente anzustellen, durch welche unspezifische Einflüsse ausgeschlossen werden konnten.

Es mussten vor allem zwei Tatsachen in Betracht gezogen werden: erstens die häufigen wiederholten Blutentnahmen, zweitens die forcierte Einspritzung von Flüssigkeit in den Magen.

Wir haben bei zehn Ratten jeweils 4 Blutentnahmen während einer Stunde vorgenommen, ohne Aceton zu verabreichen. Dabei ergaben sich folgende Blutzuckerwerte:

Zahl der Tiere	Blutzuckergehalt (Mittel) mg %			
	bei 0	nach 15 min.	nach 30 min.	nach 60 min
10	104	105	106	103
σ	12	14	7	12
MFM	± 4	± 4	± 2	± 4

Es ist augenscheinlich, dass kein signifikanter Unterschied besteht zwischen diesen Mittelwerten, die alle zwischen 104 und 107 eingereiht werden können. Selbst wenn man von den drei letzten Messungen jeweils den Maximalwert nimmt und ihn mit dem Initialwert vergleicht, findet man eine prozentuale Erhöhung des Mittels von nur 6 %. Das Mittel der prozentualen Blutzuckerschwankungen beträgt in diesem Falle 5,7 % mit einem σ von 6,1 und einem M.F.M. von 2. Für das Mittel der Initialglykämie 104 und das Mittel der folgenden Maximalglykämien 111 ergibt die Berechnung von t einen Wert von 1,4, was für 20 Beobachtungen keine signifikante Differenz bedeutet. Diese Schwankungen des Blutzuckergehaltes entsprechen den normalen physiologischen Blutzuckervariationen bei der Ratte. Wir dürfen als sicher annehmen, dass die Blutentnahmen, so wie wir sie in unseren Versuchen durchgeführt haben, nicht blutzuckersteigernd wirken, im Gegensatz zu grösseren häufigen Blutentnahmen, welche zu einer Hyperglykämie führen können, wie das schon öfters beschrieben worden ist.

Andererseits haben wir zehn Ratten destilliertes Wasser durch die Sonde in den Magen gegeben, das volumenmässig der verabfolgten Flüssigkeitsmenge bei unseren Acetonversuchen entsprach. Dabei konnten wir folgende Resultate erhalten:

Zahl der Tiere	Blutzuckergehalt (Mittel) mg %		
	vor der Wassergabe	20 min. nachher	1 h. 20 min. nachher
10	104	105	100
σ	5	10	10
MFM	$\pm$ 2	$\pm$ 3	$\pm$ 3

Wenn man nur den grösseren Blutzuckerwert nach der Wasserverabreichung berücksichtigt, so erhält man einen Mittelwert von 105. Es ist offensichtlich, dass der Differenz zwischen 104 ± 2 und $105 + 3$ keinerlei Bedeutung zukommen kann.

Wir glauben uns berechtigt, auf Grund dieser beiden Versuchsreihen anzunehmen, dass die Hyperglykämie nach Acetongabe nicht auf die wiederholten Blutentnahmen oder die forcierte Einverleibung von Flüssigkeit in den Magen zurückzuführen ist, sondern dass die blutzuckersteigende Wirkung dem Aceton selbst zuzuschreiben ist.

D. *Die Hyperglykämiekurve nach Acetongabe per os bei glukosegesättigten Ratten*

Technik der Sättigung mit Glukose:

Wir haben den Ratten dieses Experimentes zweimal 2 g Glukose

pro kg Körpergewicht im Abstand von zwei Stunden in 50%iger Lösung unter die Haut gespritzt. Die zweite Injektion wurde drei Stunden vor der Acetongabe vorgenommen. Um sicher zu sein, dass wir uns im Moment der Acetonverabfolgung bereits ausserhalb der durch die Glukoseeinspritzung provozierten Hyperglykämiereaktion befanden, bestimmten wir die Blutglukose ein erstesmal eine Stunde und ein zweitesmal unmittelbar vor der Acetongabe. Wir konnten dabei in allen unseren Versuchen feststellen, dass diese beiden Glykämien praktisch gleich waren, dass wir also das Aceton nie während der durch die zweite Glukoseinjektion provozierten Hyperglykämiereaktion verabfolgt haben.

Wir haben sieben Ratten auf diese Art behandelt und erhielten dabei die Resultate, wie sie in Tabelle 2 und Tafel 1 aufgezeichnet sind. Die verabreichten Acetonmengen betrugen durchweg 4 g pro kg Körpergewicht

Tabelle II

Blutzuckergehalt bei glukosegesättigten Ratten (mg %) Zeit nach Acetongabe						
Rate Nr	Vorher	15 min.	30 min.	1 h.	2 h.	3 h.
1	92	139	118	98	84	75
2	101	111	104	96	88	80
3	76	76	89	89	66	76
4	98	114	113	111	106	104
5	105	119	104	104	86	
6	92	134	128	120	99	
7	105	144	138	114	113	
Mittel	96	120	113	105	91	84
σ	9	21	15	12	16	14
MFM $\pm$	3	8	6	5	6	7

Man kann feststellen:

1° Dass die Hyperglykämiereaktion sofort einsetzt und dass nach einer Viertelstunde die prozentuale Erhöhung des Mittels 25 % beträgt. Das Mittel der prozentualen Maximalanstiege nach der Acetonverabreichung, ohne die Zeit zu berücksichtigen, beträgt 27 %, was zeigt, dass praktisch nach der ersen Viertelstunde die höchsten Blutzuckerwerte gefunden werden müssen. Dies ist tatsächlich der Fall, ausser bei der Ratte No. 3, wo der Blutzuckerwert nach einer halben Stunde noch etwas höher liegt.

2° Nach diesem raschen Anstieg des Blutzuckers folgt ein rasches Absinken, sodass nach zwei Stunden die Initialglykämie wieder erreicht ist. In vier Fällen liegt der Blutzuckerwert nach zwei Stunden unterhalb, in drei Fällen oberhalb des Initialwertes.

3° Drei Stunden nach der Acetongabe liegt der Mittelwert unterhalb des Initialwertes, jedoch verfügen wir hier nur über vier Beobachtungen, von denen drei ein deutliches Absinken des Blutzuckers erkennen lassen, während im vierten Fall der Blutzuckerwert noch oberhalb der Initialziffer liegt. Ausserdem betragen die Mittelwerte der Initialglykämien und der Bestimmungen nach drei Stunden für diese vier Fälle 91 ± 4 und 84 ± 7, die Differenz kann deshalb nicht als signifikant betrachtet werden.

E. *Die Hyperglykämiekurve bei den hungernden Ratten*

Die Ratten dieser Serie von Experimenten haben während 20 bis 42 Stunden vor der Acetongabe gefastet. Im Einzelnen betrug die Hungerzeit für die Ratten

No. 8, 9, 10	: 42 Stunden
No. 16 und 17	: 30 Stunden
für den Rest	: 20 Stunden

Die verabreichten Acetonmengen betrugen 1 — 5, 2 g pro kg Körpergewicht. Im Einzelnen erhielten die Ratten :

No. 1	: 5,2 g / kg
No. 2 — 10	: 4,0 g / kg
No. 11	: 3,0 g / kg
No. 12 — 19	: 2,0 g / kg
No. 20	: 1,0 g / kg

Die Resultate dieser Serie sind zusammengestellt in der Tabelle III und auf der Tafel 2.

Man erkennt

1° Dass die Mittelwerte weniger hoch sind und weniger rasch ansteigen als im vorhergehenden Fall, was die Werte nach einer Viertelstunde anbelangt.

2° Aber die Blutzuckerkurve steigt bis zum Ende der ersten halben Stunde noch weiter an.

3° Der Verlauf nach ein und zwei Stunden ist ungefähr gleich wie im vorhergehenden Experiment, doch erscheint das Absinken weniger rasch.

4° Berücksichtigt man das Mittel der Maximalwerte nach der Acetongabe, ohne auf die Zeit zu achten, so beträgt das Mittel der prozentualen Blutzuckersteigerungen + 30 %, liegt also noch höher als das gleiche Mittel bei den glukosegesättigten Ratten.

Aber die Maximalwerte welche bei den glukosevorbehandelten Tieren sechsmal nach 15 min. und einmal nach 30 min. erreicht waren, findet man hier:

7 mal nach	15 Minuten
8 mal nach	30 Minuten
3 mal nach	1 h.
2 mal nach	2 h.

5° Zum individuellen Anblick der einzelnen Blutzuckerkurven haben wir noch zu bemerken :

a) 4 von den 20 Tieren zeigten keine Blutzuckererhöhung.

b) Die häufigste Form der Kurven bestand im raschen Anstieg gefolgt von einem Plateau und einem Absinken unter den Ausgangspunkt.

c) Seltener handelt es sich einfach um eine kurzdauernde Zacke.

d) Einzelne Kurven haben eine biphasische Form. Wir geben davon ein Beispiel auf der Tafel 3.

Tabelle III

Blutzuckerwerte bei hungernden Ratten (mg %) Zeit nach Acetongabe							
Ratte Nr	Vorher	15 min.	30 min.	1 h.	2 h.	3 h.	3 h. 30 min.
1	56	98	99	91	80	71	
2	117	131	155				
3	69	93	86	73	61	54	
4	48	69	78	71	81	66	
5	60	61	76	98	83	69	
6	75	81	96	86	114	75	
7	61	80	78	80	77		
8	96	90	95	95	76	73	
9	69	83	80	80	59	59	
10	75	94	96	99	78	65	
11	44	70	61	44	55	44	44
12	93	101	88	91	83	83	83
13	91	105	108	111	96	86	
14	71	99	89	80	73	66	
15	98	99	101	88	88	88	
16	76	75	87	87	75	68	
17	77	69	75	75	75	75	
18	75	89	91	84	77	76	
19	86	106	101	88	83	76	
20	60	54	60	56	45	45	
Mittel	75	87	90	83	77	69	
σ	18	18	2	15	15	12	
MFM $\pm$	4	4	4,5	3,5	3,5	3	

6° Von den vier Tieren, die keine Erhöhung des Blutzuckers erkennen liessen, hat 1 (No. 20) nur 1 g Aceton / kg erhalten, 2 (No. 17 und 15) bekamen nur 2 g / kg, einzig No. 8 erhielt 4 g / kg. Es scheint also eine Beziehung zu bestehen zwischen der Acetondosis und der Häufigkeit einer hyperglykämischen Reaktion.

7° Um festzustellen, ob eine Beziehung besteht zwischen der Acetondosis und der Grösse der Hyperglykämiereaktion, können wir die Ratten No. 3 — 10 und No. 12 — 19 miteinander vergleichen. Wir haben ja hier zwei Serien von je acht Ratten, von denen die erste 4 g / kg und die zweite 2 g / kg Aceton bekommen hat. Dieser Vergleich liefert folgende Resultate:

	Prozentuale Blutzuckerschwankung				
Acetondosis	nach 15 min.	30 min.	1 h.	2 h.	3 h.
4 g / kg	+ 17 %	+ 25 %	+ 23 %	+ 15 %	— 4,5 %
2 g / kg	+ 12 %	+ 12 %	+ 6 %	— 2,5 %	— 7 %

Wenn man den Maximalwert nach der Acetonverabreichung berücksichtigt, ohne auf die Zeit zu achten, so beträgt für die Tiere mit 2 g / kg Aceton der Anstieg des Mittels 16 %, für die Tiere mit 4 g / kg Aceton 35 % verglichen mit dem Initialwert.

Fügen wir noch hinzu, dass a) das einzige Tier, das nur 1 g / kg Aceton erhielt, keine Hyperglykämiereaktion zeigte, b) das einzige Tier, welches 3 g / kg erhielt, einen deutlichen Blutzuckeranstieg gezeigt hat, der nicht seinesgleichen hat in der Serie der Tiere mit 2 g / kg, hingegen eine grosse Aehnlichkeit aufweist mit mindestens drei Kurven aus der Serie mit 4 g / kg, c) das einzige Tier, welches mehr als 4 g / kg erhielt, weitaus den grössten Blutzuckeranstieg gezeigt hat.

Es geht natürlich nicht an, die Mittelwerte von Serien mit den einzelnen Fällen No. 3, 11 und 20 zu vergleichen. Aber wir können, mit allen Vorbehalten die bei einer derartigen Betrachtungsweise zu machen sind, aus den beiden Serien 2 g / kg und 4 g / kg je einen Fall herausnehmen und diese beiden mit den obigen drei Einzelbeobachtungen vergleichen. Wir wählen zu diesem Zweck die Beobachtungen bei den Ratten No. 4 und 18, bei welchen eine besondere schöne Hyperglykämiereaktion zu erkennen ist. Um etwas gleichmässigere Werte zu erhalten, berücksichtigen wir bei jedem Tier das Mittel des Blutzuckergehaltes 1/4, 1/2 und 1 Stunde nach der Acetongabe und vergleichen diesen Mittelwert mit dem Initialwert. Wir erhalten auf diese Weise eine Vergleichsreihe, die in Tabelle IV aufgezeichnet ist.

Tabelle IV

	Verabreichte Acetonmenge	Blutzuckergehalt mg %				Mittel der drei Blutzuckerwerte nach Aceton	Prozentuale Blutzuckerschwankung
		vor Aceton	nach 15 min.	nach 30 min.	nach 1 h.		
Ratte Nr 1	5,2 g	**56**	98	99	91	**96**	+ 72 %
Ratte Nr 3	4 g	**48**	69	78	71	**73**	+ 52 %
Ratte Nr 11	3 g	**44**	70	61	44	**59**	+ 34 %
Ratte Nr 18	2 g	**75**	89	91	84	**88**	+ 17 %
Ratte Nr 20	1 g	**60**	54	60	56	**57**	— 5 %

Auf der Tafel 4 kommt für unsere fünf Fälle die proportionelle Abhängigkeit der Grösse der Hyperglykämiereaktion von der verabreichten Acetonmenge deutlich zum Ausdruck. Es scheint also hinsichtlich der Häufigkeit und Grösse der Blutzuckersteigerung eine Beziehung zur Menge des verabreichten Acetons zu bestehen.

F. *Die Blutzuckerkurve nach Acetongabe bei nebennierenlosen Ratten*

Technik der Adrenalektomie:

Wir verwendeten ausgewachsene Ratten und operierten mit sterilen Instrumenten in Aethernarkose.

Durchtrennung der Rückenhaut entlang der Wirbelsäule und Eröffnung der Bauchhöhle von hinten durch die dorsolateralen Rückenmuskeln unterhalb der letzten Rippe links und rechts. Wir haben das Ligament der Nebennieren mit einem Seidenfaden umschlungen und durch Anziehen des Fadens durchtrennt, und konnten dadurch eine Blutung immer vermeiden. Die herausgehobenen Nebennieren wurden jedesmal sorgfältig auf ihre Vollständigkeit geprüft und entzweigeschnitten. Verschluss der Bauchhöhle mit Catgut, der Rückenhaut mit Michelklammern.

Die nebennierenlosen Ratten erhielten das übliche Körnerfutter und zum Trinken Wasser mit 0,9 % Kochsalz.

Die Acetongaben erfolgten jeweils zwischen dem 2. und 10. Tag nach der Operation. Die Acetonmengen betrugen durchweg 4 g / kg Körpergewicht.

Die Resultate dieser Serie sind in der Tabelle V und der Tafel 5 zusammengestellt.

Tabelle V

Blutzuckerwerte bei nebennierenlosen Ratten (mg %) Zeit nach Acetongabe						
Ratte Nr	Vor	15 min.	30 min.	1 h.	2 h.	2 h. 30 min.
1	99	118	119	99	88	61
2	119		141	134	115	113
3	105	125	124	126	118	114
4	89	85	83	109	115	108
5	119	135	130	130	118	118
6	109	125	124	123	128	119
7	84	132	124	107	106	101
8	108	131	124	120	117	112
9	89	80	89	64	38	45
10	111	151	140	139	124	119
Mittel	103	120	120	115	107	101
σ	12,5	23,3	19,3	22	26,6	26,2
MMF $\pm$	4	7,8	6,1	7	8,4	8,3

Wir bemerken :

1° Der prozentuale Anstieg des Mittels am Ende einer Viertelstunde beträgt 18,2 % (für 9 Beobachtungen).

2° Am Ende der ersten halben Stunde beträgt die prozentuale Blutzuckersteigerung nur noch 16,5 % (für 10 Beobachtungen). Die Hyperglykämie ist also etwas niedriger, dafür aber etwas rascher auf dem Höchstwert als bei den hungernden Tieren.

3° Der Kurvenverlauf nach 1 und 2 Stunden verhält sich ungefähr wie in den vorhergehenden Fällen.

4° Das Mittel der prozentualen Maximalanstiege nach der Acetongabe, ohne die Zeit zu berücksichtigen, beträgt + 22,6 ± 4 %, liegt also unter dem gleichen Mittel bei den hungernden Ratten. Der Maximalwert ist erreicht

nach	15 Minuten	4 mal
nach	30 Minuten	3 mal
nach	1 h.	1 mal
nach	2 h.	2 mal

Wir machen noch auf zwei Details aufmerksam :

a) Drei Ratten (No. 1, 4, 9) starben ungefähr 24 Stunden nach der Acetoneinverleibung. Sie zeigten vor dem Tode deutliche Krämpfe.

b) Bei Ratte No. 9 stieg der Blutzucker nicht, sondern sank sehr stark ab (siehe Tafel 5).

G. *Die Wirkung des Acetons auf den Blutzuckergehalt bei drei phlorrhizinvergifteten Ratten*

Wir berichten hier über drei Einzelbeobachtungen, die zwar keinerlei statistischen Wert besitzen, aber dennoch von einem gewissen Interesse sind.

Das Phlorrhizin wurde subcutan gespritzt, in einer 1,2 %igen Natriumcarbonatlösung (nach CREMER und RITTER (8).), wobei das Flüssigkeitsvolum pro Injektion jeweils 3 ccm betrug. Nur in unserem dritten Fall haben, wir auch noch eine ölige Phlorrhizinlösung gebraucht, um die Wirkungsdauer zu verlängern (nach COOLEN (9).). Wir suspendierten das Phlorrhizin jeweils in 1 ccm Erdnussöl und injizierten subcutan.

Die Adrenalininjektionen wurden subcutan ausgeführt, indem wir mit einer Tuberkulinspritze eine 0,04 promillige Adrenalinlösung spritzten. Wir hatten vorhergehend bei einigen gesunden Ratten die blutzuckersteigernde Wirkung dieser Adrenalininjektionen geprüft, und fanden mit 20 Gamma Adrenalin pro kg Ratte jeweils eine deutliche Hyperglykämiereaktion.

Beobachtung No. 1 :

Weibliche Ratte von 205 g Gewicht.	Blutzuckergehalt mg %
Erster Tag des Experimentes :	
10 h 10 Beginn des Fastens. Blutentnahme	129
10 h 25 40 mg Phlorrhizin	
17 h 50 Blutentnahme	103
18 h 00 150 mg Phlorrhizin	
Zweiter Tag des Experimentes :	
08 h 30 50 mg Phlorrhizin	
10 h 15 Blutentnahme	39
10 h 30 6 Gamma Adrenalin	
10 h 50 Blutentnahme	25
11 h 30 Blutentnahme	54
12 h 30 Blutentnahme	50
13 h 10 Acetongabe (4 g pro kg)	
13 h 25 Blutentnahme	61
13 h 55 Blutentnahme	67
14 h 40 Blutentnahme	65

Man kann ein Ansteigen des Blutzuckergehaltes nach Adrenalin von 25 auf 54 und nach Aceton von 50 auf 67 mg % feststellen. Die Ratte starb ungefähr 12 Stunden nach der Acetonverabreichung.

Beobachtung No. 2 :

Weibliche Ratte von 200 g Gewicht	Blutzuckergehalt mg %
Erster Tag des Experimentes :	
10 h 15 Beginn des Fastens. Blutentnahme	154
11 h 10 50 mg Phlorrhizin	
17 h 55 Blutentnahme	96
18 h 10 150 mg Phlorrhizin	
Zweiter Tag des Experimentes :	
08 h 40 50 mg Phlorrhizin	
10 h 20 Blutentnahme	99
10 h 35 6 Gamma Adrenalin	
10 h 55 Blutentnahme	96
11 h 35 Blutentnahme	106
12 h 35 Blutentnahme	103
13 h 15 Acetongabe (4 g pro kg)	
13 h 30 Blutentnahme	113
14 h 00 Blutentnahme	114
14 h 45 Blutentnahme	128

Man kann ein leichtes Ansteigen des Blutzuckergehaltes von 96 auf 106 mg % nach Adrenalin und ein wesentlich deutlicheres Ansteigen von 103 auf 128 mg % nach Aceton feststellen.

Beobachtung No. 3 :

Weibliche Ratte von 225 g Gewicht.	Blutzuckergehalt mg %
Erster Tag des Experimentes :	
11 h 00 Beginn des Fastens. Blutentnahme	107
11 h 15 150 mg Phlorrhizin (in Sodalösung)	
18 h 00 150 mg Phlorrhizin (in Erdnussöl)	
Zweiter Tag des Experimentes :	
09 h 00 150 mg Phlorrhizin (in Sodalösung)	
18 h 00 150 mg Phlorrhizin (in Erdnussöl)	
Dritter Tag des Experimentes :	
08 h 30 50 mg Phlorrhizin (in Sodalösung)	
08 h 55 Blutentnahme	36
09 h 00 10 Gamma Adrenalin	
09 h 30 Blutentnahme	37
10 h 00 Blutentnahme	44
10 h 45 Blutentnahme	45
10 h 50 6 Gamma Adrenalin	
11 h 30 Blutentnahme	45
12 h 15 Blutentnahme	50
12 h 20 Acetongabe (4 g pro kg)	
12 h 35 Blutentnahme	37
13 h 15 Blutentnahme	36
13 h 45 Blutentnahme	42
14 h 20 Tod der Ratte.	

In diesem Falle können wir weder nach Adrenalin noch nach Aceton eine nennenswerte Aenderung des Blutzuckergehaltes feststellen. Wir machen aber darauf aufmerksam, dass sogleich nach der Acetongabe die Ratte komatös wurde und dass die folgenden Blutentnahmen an einem moribunden Tier vorgenommen wurden.

Interpretation

Nachdem unsere Experimente die mitgeteilten Resultate geliefert haben, können wir versuchen, die experimentellen Tatsachen zu interpretieren. Unsere Ueberlegungen werden etwa in der folgenden Weise geschehen : zunächst werden wir uns bemühen die möglichen theoretischen Erklärungen für unsere Resultate zusammenzustellen und diese Interpretationen zu diskutieren. Dann werden wir erwähnen, welchen Mechanismus wir für den wahrscheinlichsten halten und werden versuchen, unsere Feststellungen in den Rahmen der heutigen Auffassungen über den Ketonkörper — und Kohlenhydratstoffwechsel einzureihen.

A. *Mechanismen, welche theoretisch gestatten, die Hyperglykämie nach Aceton zu erklären*

Ganz allgemein, wenn die Einverleibung eines Stoffes in den Organismus von einer Hyperglykämie gefolgt ist, können wir mehrere logische und einfache Erklärungen finden. Wir können auch annehmen, dass mehrere dieser Mechanismen zusammenspielen.

1. Ein erster Mechanismus kann darin bestehen, dass eine gewisse Menge Kohlenhydrat, das im Organismus schon vorgebildet ist, im Moment der Einverleibung der blutzuckersteigernden Substanz in Form von Glukose in Zirkulation gesetzt wird. Es ist dies die Theorie der massiven oder beschleunigten Glykogenolyse, welche offenbar nur in der Leber vonstatten geht, da das Muskelglykogen keine Glukose an das Blut abgeben kann, weil dem Muskel die nötigen Encymsysteme fehlen, welche die Hexosephosphorsäure-Ester umwandeln können. Es ist hier nicht der Ort, um die Frage zu untersuchen, wie die Leber-Glykogenolyse reguliert wird. Im Wesentlichen scheint ein dynamisches Gleichgewicht zwischen der Glykogenosynthese und der Glykogenolyse zu bestehen, wodurch der normale Blutzuckergehalt garantiert wird. Im Augenblick, wo die Leberglykogenolyse das Uebergewicht bekommt über die Leberglykogenosynthese wird sich auch eine Hyperglykämie einstellen. Dies kann unter den verschiedensten Umständen geschehen z. B. nach einer Adrenalininjektion oder häufig dann, wenn sich der Organismus gegen eine schädigende Substanz wehren muss. Die Tatsache, dass diese Hyperglykogenolyse in der Leber weitgehend eine unspezifische Reaktion darstellt, lässt sie als eine Art « Abwehrreaktion » auffassen. Man kann vermuten, dass zwischen den verschiedenartigen Reizen und der einzigartigen Antwort in der Form einer Hyperglykämiereaktion physio-pathologische Zusammenhänge bestehen, sei es durch nervöse Mechanismen, sei es durch das Wirksamwerden intermediärer chemischer Substanzen. Beide Auffassungen lassen sich vertreten, denn wir können die nervösen Mechanismen als Funktionen des sympathischen Nervensytems, die intermediäre chemische Substanz als Adrenalin ansehen, das vom Nebennierenmark ins

Blut abgegeben wird. Ausserdem kann man annehmen, dass die beiden Vorgänge eng miteinander verbunden sind, da das Nebennierenmark unter dem Einfluss des Sympathicus steht und dieser letztere auf die Leber einwirkt durch Vermittlung einer dem Adrenalin nahestehende Substanz, wenn es sich nicht um Adrenalin selbst handelt.

Man spricht also im Allgemeinen die Hyperglykämien, welche auf eine gesteigerte Glykogenolyse in der Leber zurückzuführen sind, als reaktive Hyperglykämien an, welche ausgelöst werden können durch verschiedene unspezifische Reize unter Vermittlung nervöser Mechanismen (Sympathicus) oder humoraler Agentien (Adrenalin). Dementsprechend können wir auch das Aceton als unspezifischen Reizstoff auffassen, welcher eine Sympathicus-Reaktion und Adrenalinausschüttung nach sich zieht und so zur Hyperglykämie führt. Wir hätten also nichts weiteres als ein Beispiel einer Alarm-Hyperglykämie vor uns.

2. Ein zweiter Mechanismus könnte theoretisch das vorübergehende Ansteigen des Blutzuckers nach Einverleibung irgend einer wirksamen Substanz in den Organismus erklären. Wir könnten z. B. annehmen, dass unter der Wirkung dieser Substanz die Neubildung von Kohlenhydrat aus nicht kohlenhydratartigen Substanzen angeregt wird. Wiederum müssten sich diese Prozesse in der Leber abspielen, da die Neoglukogenese praktisch auf die Leber beschränkt ist. Wenn aus irgend einem Grunde die Leber vermehrt Glykogen aus Nicht-Kohlenhydraten bildet so belädt sie sich mit diesem Glykogen. Infolge des dynamischen Gleichgewichts zwischen Glykogenosynthese und Glykogenolyse, beginnt die Leber Glukose an das Blut abzugeben, die von Glykogen stammt, das aus Nicht-Kohlenhydrat gebildet worden ist. Damit beginnt der Blutzuckergehalt zu steigen, und zwar umsomehr, je intensiver die Neoglukogenese vor sich geht. Natürlich findet eine Neoglukogenese auch im normalen physiologischen Zustand des Organismus immerwährend statt. Aber im Normalzustand findet diese Neoglukogenese nur in dem Masse statt, als ein Bedarf besteht, der bestimmt wird durch das Mass in dem die extrahepatischen Gewebe dem Blut Glukose entziehen. In dem Moment, wo aus irgendeinem Grunde die Neoglukogenese in der Leber intensiver wird, als es den Bedürfnissen der Peripherie an Neoglukose entspricht, erscheint auch die Hyperglykämie.

Wir können hier nicht alle Momente erwähnen, welche eine Steigerung von Neoglukogenese zur Folge haben. Wir möchten nur festhalten, dass im Prinzip die Neoglukogenese auf zwei verschiedene Arten angeregt werden kann, wenn eine Substanz in den Organismus eingeführt wird:

a) Es kann sich um eine Substanz handeln, die selbst zur Bildung von Neoglukose verwendet wird. So wird die Neoglukogenese gesteigert durch Zuführung glukoplastischer Aminosäuren. Die zugeführte Substanz wird dann direkt in Neoglukose verwandelt.

b) Es kann sich aber auch um eine Substanz handeln, die lediglich die Neoglukogenese anregt, ohne selbst verwertet zu werden. So verursacht z. B. das Phlorrhizin eine starke Neoglukogenese, weil der Organismus durch die Niere Glukose verliert und der Organismus diesen Ver-

lust zu kompensieren versucht. Das Corticosteron z. B. steigert die Neoglukogenese dadurch, dass es den Eiweissabbau anregt, wodurch vermehrt glukoplastische Aminosäure frei werden, die direkt zur Neoglukogenese verwendet werden.

Eine zugeführte Substanz kann also die Neoglukogenese direkt (wie z. B. Phlorrhizin) oder indirekt auf hormonalem Wege anregen. Es ist also möglich, dass eine Substanz, welche direkt eine vermehrte Abgabe von Corticosteron aus der Nebennierenrinde bewirkt oder indirekt durch Reizung der Hypophyse mit vermehrter Angabe von corticotropem Hormon eine vermehrte Corticosteronabgabe aus der Nebennierenrinde anregt, für eine Hyperneoglukogenese verantwortlich ist.

Wenn wir uns nun fragen, ob vielleicht das Aceton blutzuckersteigernd wirkt, weil es die Neoglukogenese beeinflusst, so müssen wir auch folgende Ueberlegungen anstellen :

a) Ob das Aceton direkt auf die Neoglukogenese einwirkt

b) Ob das Aceton indirekt durch Vermittlung neoglukogenetisch wirksamer Hormone eine Rolle spielt.

c) Ob das Aceton eventuell selbst als glukoplastische Substanz auftreten kann.

3. Es gibt noch eine dritte Möglichkeit, um das vorübergehende Ansteigen des Blutzuckers zu erklären. Wir können auch annehmen, dass der Verbrauch der Blutglukose in den pripheren Geweben aus irgendeinem Grunde gebremst wird.

Die Gewebe verbrauchen fortwährend Glukose, wobei die Quantität abhängig ist von den jeweiligen momentanen Bedürfnissen einerseits und von der allgemeinen Regulation des Stoffwechsels andererseits. Dies ist ersichtlich aus dem rapiden Absinken des Blutzuckergehaltes nach Hepatektomie, wobei die Gewebe zwar Glukose verbrauchen, die verbrauchte Glukose aber nicht mehr ersetzt werden kann. Im gesunden Organismus besteht ein Gleichgewicht zwischen Glukoseabgabe durch die Leber an das Blut und Glukoseverbrauch in der Peripherie, sodass der Blutzuckergehalt konstant bleibt. Wir können sicher annehmen, dass wenn der periphere Zuckerverbrauch vermindert wird und die Leber unverändert Glukose abgibt, der Blutzucker ansteigen muss.

Hatten wir in den zwei vorhergehenden Ueberlegungen einen normalen peripheren Zuckerverbrauch, aber eine erhöhte Abgabe von Glukose an das Blut durch die Leber ins Auge gefasst, so hätten wir hier den umgekehrten Fall vor uns : eine normale Zuckerabgabe durch die Leber mit einem verminderten Glukoseverbrauch in den peripheren Geweben.

Der mangelhafte Verbrauch an Glukose in den peripheren Geweben kann verschiedene Ursachen haben :

a) Es könnte sich um einen Mangel an Substanzen handeln, welche für die vollständige Glukoseverbrennung unerlässlich sind. Der Mangel an Insulin, welches für die Angreifbarkeit der Blutglukose und ihre Umwandlung zu Hexosephosphorsäure-Ester mit Hilfe der Hexokinase unerlässlich ist, ist ein Beispiel für eine solche gehemmte periphere Zuckerverwertung.

b) Weiterhin könnte es sich um die Wirkung von vermehrt auftretenden Substanzen handeln, welche den Glukoseabbau hemmen. Wir haben Beispiele solcher Substanzen im Corticosteron und im sog. diabetogenen Hypophysenvorderlappenhormon, welche die Insulinaktivität und die Umwandlung der Glukose in den Robinson-Ester hemmen.

c) Endlich könnte auch die starke Ueberlastung der Gewebe mit intermediären Stoffwechselprodukten zu einer vorübergehenden Beschränkung und Verlangsamung der Glukoseverwertung führen.

Wenn wir also die Acetonhyperglykämie einer mangelhaften peripheren Zuckerverwertung zuschreiben wollten, hätten wir noch zu untersuchen, ob das Aceton die Glukoseverbrennung verlangsamt, weil es eine hierzu unerlässliche Substanz unterdrückt, weil es unerlässliche Wirkstoffe hemmt oder die Produktion solcher hemmender Stoffe anregt, oder weil es zur Bildung intermediärer Stoffwechselprodukte führt, welche ihrerseits hemmend wirken.

Dies wären etwa die theoretischen Ueberlegungen, nach welchen wir unsere experimentellen Befunde zu beurteilen hätten. Wir haben dabei nur über bekannte Mechanismen gesprochen. Wenn wir sie trotzdem besonders erwähnt haben, so geschah es deshalb, weil wir unsere persönliche Fragestellung vor dem Interpretationsversuch unserer Einzelbeobachtungen genauer präzisieren wollten.

B. *Kann die Acetonhyperglykämie einer gesteigerten Leberglykogenolyse zugeschrieben werden*

An diese Hypothese denken wir zuerst. Zahlreiche toxische Substanzen, die dem Organismus einverleibt werden, lösen ähnliche Reaktionen aus. Die allgemeine Charakteristik dieser Alarm-Hyperglykämien ist bekanntlich die folgende : Die Blutzuckererhöhung ist relativ gering, sie erfolgt sofort nach Applikation des schädlichen Agens, sie dauert nur wenige Stunden und ist häufig gefolgt von einer reaktiven Hypoglykämie.

Die Charakteristik passt ausgezeichnet zum Bild der Acetonhyperglykämie und es scheint sich in der Tat dabei um eine Alarm-Hyperglykämie zu handeln.

Es gibt aber einige Punkte, die dieser Auffassung widersprechen.

a) Die im Gefolge der Einverleibung eines toxischen Agens auftretende Alarm-Hyperglykämie ist in ihrer Grösse nicht proportional der Menge der toxischen Substanz. Wenn die Dosis der schädlichen Substanz, die dem Organismus zugeführt wird, zu gering ist, so bleibt die Hyperglykämiereaktion aus. Ist die geringste wirksame Dosis überschritten, so wird die Hyperglykämiereaktion ausgelöst und zeigt keine Abhängigkeit von der Dosis. Die Anwendung sehr grosser Dosen hat im Gegenteil oftmals eine Abschwächung der Hyperglykämiereaktion zur Folge. Die Alarm-Hyperglykämie gehorcht also mehr oder weniger dem « Alles oder Nichts-

Gesetz ». In unseren Experimenten konnten wir aber dies nicht feststellen. Das Aceton hat sich auch in unseren Versuchen als relativ wenig toxisch erwiesen. Viele Ratten, selbst nebennierenlose, haben wiederholte Acetondosen von 4 g / kg Körpergewicht anstandslos vertragen. Wir haben über die Allgemeinerscheinungen bei der Ratte nach Acetongabe in dieser Arbeit nicht speziell berichtet, da wir nicht die bereits gut bekannte Toxikologie des Acetons untersuchen wollten. Wir möchten uns deshalb mit der Mitteilung begnügen, dass bei unseren Ratten eine Acetondosis von 1 oder 2 g / kg Körpergewicht keinerlei Störung des Allgemeinverhaltens ausgelöst hat, die Dosis von 4 g / kg hingegen eine Somnolenz und manchmal eine deutliche Ataxie hervorgerufen hat. Auf alle Fälle aber besteht, wie wir das gezeigt haben, eine gewisse Beziehung zwischen der Acetondosis und der Häufigkeit und Intensität der Hyperglykämiereaktion. Die Acetonhyperglykämie scheint also mit der allgemeinen Charakteristik der Alarm-Hyperglykämie nicht vollständig übereinzustimmen.

b) Die durch eine massive Leberglykogenolyse provozierte Alarm-Hyperglykämie ist bei glukosegesättigten Tieren immer intensiver und häufiger, als bei Tieren mit reduziertem Glykogengehalt in der Leber. Wir haben dies in unseren Versuchen nicht feststellen können. Bei den Ratten, die 20 — 42 Stunden fasteten und welche nach Angaben in der Literatur sehr verminderte Glykogenreserven in der Leber haben müssen, waren die Blutzuckersteigerungen ebenso häufig und intensiv wie selbst bei glukosegesättigten Tieren. Ausserdem stieg in Beobachtung No. 2 der phlorrhizinvergifteten Tiere der Blutzucker nach der Acetongabe deutlich an, obwohl bei dieser Ratte nach der Phlorrhizin- und Adrenalinverabreichung das Leberglykogen praktisch vollständig verschwunden sein musste (LUSK 10). Dies lässt sich schwerlich als Alarm-Hyperglykämie erklären.

Es scheint also die Acetonhyperglykämie nicht von der Grösse der Glykogenreserven in der Leber abzuhängen und unter diesen Umständen hegen wir starke Zweifel, sie einfach als Folge einer provozierten Leberglykogenolyse zu interpretieren.

c) Die Alarm-Hyperglykämien lassen sich unterdrücken durch die Adrenalektomie. Diese Tatsache wird im Allgemeinen dem Ausfall des Nebennierenmarkes mit Fehlen der Adrenalinsekretion zugeschrieben. Es ist auch möglich, dass der Ausfall der Nebennierenrinde dabei auch eine Rolle spielt, da die Glykogenreserven in der Leber bei Ausfall des Rinden hormons vermindert sind. Wie dem auch sei, es ist eine ziemlich allgemein anerkannte Tatsache, dass nach Adrenalektomie die Alarm-Hyperglykämien, oftmals eher als Hypoglykämien in Erscheinung treten. Das fanden wir aber in unseren Experimenten nirgends bestätigt. Ein Blick auf die Tafeln 1, 2, 5 genügt um festzustellen, dass die Mittelwerte der Glykämien bei den adrealektomierten, nüchternen und glukosegesättigten Tieren eine weitgehende Aehnlichkeit aufweisen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine Hyperglykämiereaktion, welche (a) proportional der dem Organismus einverleibten Dosis einer

übrigens wenig toxischen Substanz zu verlaufen scheint, was Intensität und Häufigkeit anbetrifft, welche (b) unabhängig zu sein scheint von der Grösse der Glykogenreserven in der Leber, und welche (c) nach Adrenalektomie bestehen bleibt, nicht gut einer Alarm-Hyperglykämie mit Adrenalinausschüttung und gesteigerter Leberglykogenolyse gleichgesetzt werden kann.

Wir glauben uns deshalb berechtigt, zu sagen, dass das Aceton in unseren Versuchen nicht ein unspezifisches Agens darstellt, das einfach eine Alarm-Hyperglykämie ausgelöst hat.

C. *Kann die Acetonhyperglykämie auf eine gesteigerte Neoglukogenese zurückgeführt werden?*

Wie wir uns bereits überlegt haben, könnte das Aceton eine gesteigerte Neoglykogenese auf zwei verschiedene Arten auslösen: einerseits indem es die Neoglukogenese nur aktiviert, ohne selbst dabei verwertet zu werden, andererseits indem es direkt an der Neubildung von Glukose beteiligt ist.

a) Aktivierung der Neoglykogenese durch Aceton.

Wir haben keinerlei Argumente zu Gunsten dieser Auffassung vorzubringen. Weder in unseren Experimenten, noch in der übrigen Literatur konnten wir eine Stütze für diese Hypothese finden. Eine Möglichkeit bestände immerhin, z. B. durch Auslösung einer Hypersekretion von Corticosteron mit vermehrtem Eiweissabbau und erhöhtem Angebot an glukoplastischen Aminosäuren. Es ist wohl möglich, dass dieser Mechanismus bei der Alarm-Hyperglykämie eine Rolle spielt. Da bei unseren nebennierenlosen Ratten aber der Blutzuckeranstieg ebenfalls erfolgt, besitzt dieser Mechanismus in unserem Falle sicher keine Bedeutung. Wir können im Gegenteil diese Tatsache als Gegenbeweis benutzen, da bekannt ist, dass die Adrenalektomie die Neoglukogenese beträchtlich vermindert, was auch immer ihre Ursache ist. Die Neoglukogenese beim Hungern, beim Pancreasdiabetes, beim hypophysären Diabetes, beim Alloxandiabetes und bei der Phlorrhizinvergiftung vermindert sich stark nach Adrenalektomie. Zuführen von Corticosteron normalisiert die Neoglukogenese wieder.

Die Tatsache, dass die Acetonhyperglykämie auch nach Adrenalektomie bestehen bleibt, ist ein starkes Argument gegen die Hypothese, das Aceton könnte durch Aktivierung der Neoglukogenese blutzuckersteigernd wirken.

b) Das Aceton als glukoplastische Substanz.

Besteht eine Möglichkeit, dass sich aus Aceton im Organismus Zucker bildet? Das zu behaupten, würde viel Staub aufwirbeln, unterscheiden wir doch nach alter Gewohnheit unter den Nicht-Kohlenhydraten (Aminosäuren und Fettsäuren) Substanzen mit glukoplastischen und solche mit ketoplastischen Eigenschaften. Die Hypothese aufzustellen, das Aceton, selbst ein Abbauprodukt ketoplastischer Substanzen könne glukoplastisch wirken, hiesse ein Paradoxon errichten, das sich schon in seinen Bezeich-

nungen widerspricht. Hüten wir uns also, derartige Hypothesen ins Auge zu fassen. In unseren Versuchen findet sich auch nicht der geringste Anhaltspunkt, der zu Gunsten einer solchen Auffassung sprechen würde.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass es schwer fällt, eine direkte oder indirekte Aktivierung der Neoglukogenese durch das Aceton anzunehmen und dass es a priori unsinnig erscheint, dem Aceton glukoplastische Fähigkeiten zuzuschreiben. Wir schreiben dementsprechend die Acetonhyperglykämie auch nicht einer gesteigerten Neoglukogenese zu.

D. *Kann die Acetonhyperglykämie durch einen verminderten peripheren Glukoseabbau verursacht sein?*

Wir haben einleitend schon gesagt, dass diese Hypothese von verschiedenen Seiten zu betrachten ist. Das Aceton könnte a priori die Bildung oder das Angreifen einer für den Glukoseabbau unerlässlichen Substanz hemmen, das Insulin z. B. Die Art unserer Versuche gestattet nicht, diese Frage zu entscheiden. Immerhin ist dazu zu sagen, dass das Aceton als Ketonkörper ein physiologisches Produkt darstellt und dass klinische und experimentelle Beobachtungen selbst bei starker Ketosis keine Beeinträchtigung der Insulinwirkung haben erkennen lassen. Es ist deshalb wenig wahrscheinlich, dass das Aceton blutzuckersteigernd wirkt, weil es die Insulinwirkung blockiert.

Es wäre indessen denkbar, dass eine vorübergehende Abschwächung der Insulinproduktion im Pancreas auftreten könnte. Könnte die Einführung einer grossen Menge Aceton in den Magen eventuell direkte chemische, indirekte nervöse oder sekundäre humorale Reaktionen auslösen, welche die Abgabe von Insulin aus dem Pancreas zeitweilig bremsen? Diese Möglichkeit ist nicht von der Hand zu weisen. Sie steht auch nicht im Gegensatz zu den Hypothesen, welche wir weiter unten noch besprechen werden.

Das Aceton könnte theoretisch die periphere Zuckerverbrennung noch auf andere Art hemmen. Es könnte die Bildung von Substanzen anregen, welche ihrerseits den Glukoseabbau hindern. Wir denken dabei an eine vermehrte Sekretion von Nebennierenrindenhormon, welches sowohl neoglukogenetisch wirksam ist, als auch die periphere Zuckerverbrennung vermindert. Doch kommt diese Hypothese für uns nicht in Betracht, da die Hyperglykämie nach Aceton auch bei nebennierenlosen Ratten auftritt.

Bliebe noch die Möglichkeit einer Verminderung des peripheren Zuckerabbaues als Folge der Verstopfung der Glukoseoxydationswege durch aus dem Aceton entstandene intermediäre Stoffwechselprodukte, welche in erster Linie umgesetzt werden.

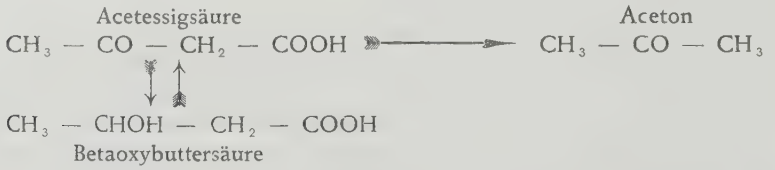
Diese letztere Hypothese scheint uns die wahrscheinlichste zu sein. Wir können zwar diese Prozesse nicht mit Formeln belegen, doch werden wir zu zeigen versuchen, dass diese Auffassung im Einklang steht mit

den heutigen Auffassungen über den Ketonkörperstoffwechsel und seine Beziehungen zum Kohlenhydratstoffwechsel.

E. *Allgemeine Beziehungen zwischen dem Ketonkörper- und Glukoseabbau*

Wir beschränken uns in dieser Uebersicht lediglich auf die Beziehungen zwischen Kohlenhydrat- und Ketonkörperabbau, ohne uns mit der Frage der Beziehungen zwischen Zuckerstoffwechsel und Ketonkörperbildung zu befassen.

Es wird heute allgemein anerkannt, dass die Ketonkörper normale Stoffwechselprodukte darstellen, welche die Gewebe als Energielieferanten verwerten. Ihre Erscheinungsformen, ihre Abstammung und der Ort ihrer Bildung interessieren uns hier nur indirekt. Man neigt ziemlich allgemein zu der Ansicht, dass zwischen der Acetessigsäure und der Betaoxybuttersäure eine Gleichgewichtsreaktion besteht und dass sowohl die eine wie die andere dieser beiden Verbindungen von den Geweben verwertet werden können, während das Aceton ein Endprodukt darstellt, das aus der Acetessigsäure durch eine irreversible Decarboxylierung entsteht.



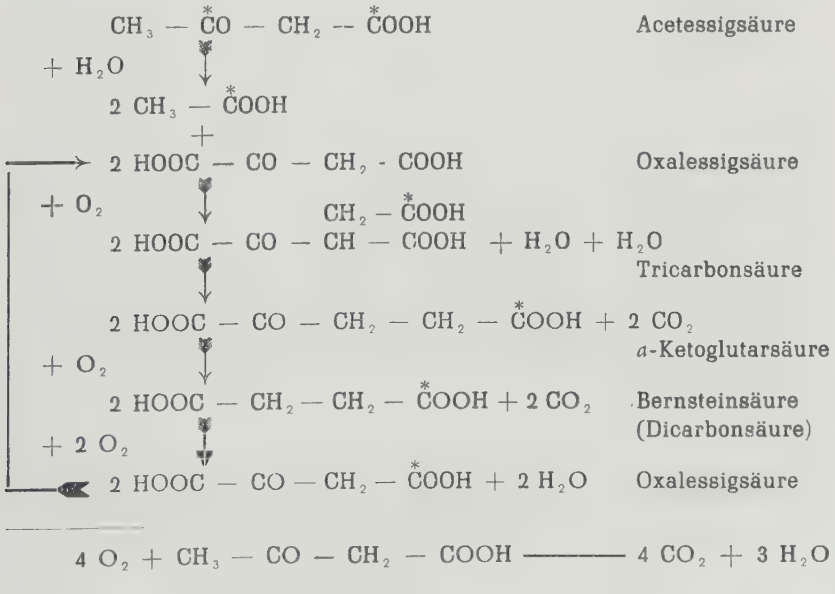
Die im Normalzustand produzierten Acetonmengen sind sehr klein und die leichte Ausscheidbarkeit des Acetons (Lunge, Niere, Verdauungstrakt) bringt es mit sich, dass eine Anhäufung im Organismus nicht in solchen Mengen entsteht, die nötig wären, um die Umkehr der Reaktion zu bewirken, durch welche es entstanden ist.

Bringen wir aber auf experimentellem Wege grosse Mengen von Aceton in den Organismus, so steht plötzlich eine relativ kleine Konzentration an Acetessigsäure einer grösseren Konzentration an Aceton gegenüber. Es ist durchaus möglich, dass diese Konzentrationsumkehr auch die Reversibilität der Acetessigsäure — Aceton erzwingt. Ein grosser Teil des zugeführten Acetons wird auf natürlichem Wege ausgeschieden. Aber ein kleiner Teil könnte sich durch Carboxylierung in Acetessigsäure umwandeln. Wir könnten also folgern, dass die erste Stoffwechselveränderung nach der Acetonverabreichung darin besteht, dass die Gewebe mit Acetessigsäure (und Betaoxybuttersäure) überladen werden.

Die so im Ueberschuss gebildete Acetessigsäure fiele natürlich sofort einer raschen Ausscheidung anheim, aber gleichzeitig träten auch die

üblichen Mechanismen in Funktion, welche ihre Verbrennung in den Geweben besorgen.

Die gegenwärtige Auffassung über die Verbrennung der Acetessigsäure ist die folgende. Ein Molekül Acetessigsäure soll zunächst in 2 Fragmente à 2 C-Atome gespalten werden unter Aufnahme von 1 Molekül Wasser. Nach der Aufspaltung befindet sich das C-Atom der Carboxylgruppe im einen, das C-Atom der Carbonylgruppe im andern Fragment, wie BUCHANAN einerseits und GURIN andererseits mit Hilfe von markierten C-Atomen haben feststellen können (16). Jedes der beiden Fragmente mit je 2 C-Atomen verbindet sich mit einer Dicarbonsäure (wahrscheinlich der Oxalessigsäure) und bildet durch Oxydation und Verlust von 2 Molekülen Wasser eine Tricarbonsäure. Auf dem Wege des Tricarbonsäurecyclus, den wir hier nicht näher zu beschreiben brauchen, wird die a-Ketoglutarsäure gebildet, unter Verlust von 2 CO_2-Gruppen. Es ist durch markierte C-Atome gezeigt worden, dass die C-Atome der ausgeschiedenen CO^2-Gruppen nicht aus den beiden Fragmenten der Acetessigsäure stammen. Durch Oxydation und Decarboxylierung kehrt die Kette wieder zurück zur Dicarbonsäure, und die Oxalessigsäure bildet sich wieder durch Oxydation und Dehydratation. Insgesamt sind auf diese Weise 1 Molekül Acetessigsäure verschwunden, wobei 4 Moleküle Sauerstoff verbraucht und 4 Moleküle CO^2 geliefert wurden, ebenso wie 4 Moleküle Wasser, von denen eines dasjenige Molekül Wasser ersetzt, welches bei der Spaltung der Acetessigsäure verbraucht wurde. Im folgenden Schema sind diese Reaktionen zusammengefasst, wobei eine sowohl in der Carboxyl- als in der Carbonylgruppe markierte Acetessigsäure zum Ausgangspunkt genommen wird.



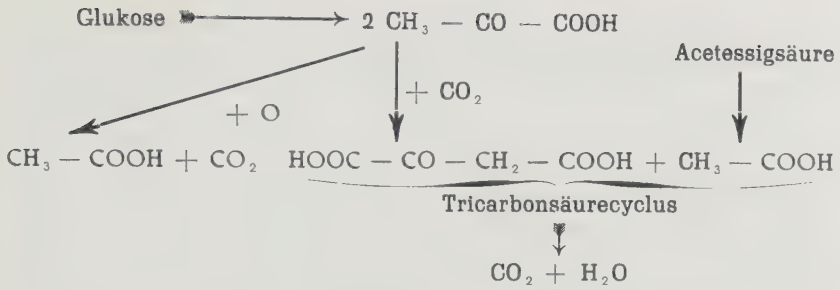
Diese Darstellung des Ketonkörperabbaues wird anerkannt von GURIN, DELLUVA, WILSON, und BARNES (11,15). Die Untersuchungen von LYNEN (12), und von VERTANEN und SUNDMAN (13) über den Abbau der Acetessigsäure über den Tricarbonsäurecyclus stimmen mit dieser Theorie überein. WIELAND und ROSENTHAL (14) haben zeigen können, dass sich die Acetessigsäure mit der Oxalessigsäure verbindet und Citronensäure liefert. Man kann also mit grosser Wahrscheinlichkeit annehmen, dass dieses Schema Gültigkeit hat.

Wenn wir nun in unseren Versuchen den Organismus mit grossen Mengen von Kentonkörpern überschwemmen, so wird sehr viel Oxalessigsäure zu deren Entfernung benötigt, wobei der Tricarbonsäurecyclus und die Dicarbonsäuren eventuell gänzlich dem Abbau der Acetessigsäure reserviert werden. Hier finden wir den Anschluss an das Problem des Zuckerabbaues.

Denn die Oxalessigsäure entsteht durch Carboxylierung der Brenztraubensäure. Es ist mehr als nur wahrscheinlich, dass der Weg über die Oxalessigsäure mindestens eine Oxydationsart der Brenztraubensäure darstellt, welche somit Anschluss an den Tricarbonsäurecyclus hat. Halten wir weiter fest, dass die Oxalessigsäure beim Abbau der Acetessigsäure nicht verloren geht, sondern immer wieder von neuem entsteht, wobei aber der Tricarbonsäurecyclus durch Acetessigsäureabbau völlig in Beschlag genommen wird.

Selbst wenn man noch einen anderen Oxydationsweg für die Brenztraubensäure annähme, wobei z. B. eine initiale Decarboxylierung eine Verbindung mit 2 C-Atomen liefert, so würden sich wahrscheinlich je zwei solcher Reste zusammenlagern und erneut eine Dicarbonsäure (vermutlich Oxalessigsäure) bilden.

Bleibt aber durch den vermehrten Abbau der Ketonkörper die Menge an Oxalessigsäure unverändert, so muss der Brenztraubensäureabbau blockiert werden. Es scheint also durchaus möglich zu sein, dass bei starker Anreicherung von Ketonkörpern im Organismus ihr Abbau die normale Oxydation von Brenztraubensäure und infolgedessen der Glukose zurückdrängt. Wir haben im folgenden Schema diese Möglichkeit aufgezeichnet. Der Einfachheit halber nehmen wir in diesem Schema an, aus den 2 Molekülen Brenztraubensäure (die ihrerseits aus 1 Molekül Glukose stammen) entstehe einerseits durch Decarboxylierung ein Rest mit 2 C-Atomen (vielleicht Essigsäure), andererseits durch Carboxylierung 1 Molekül Oxalessigsäure. Normalerweise verbindet sich die Oxalessigsäure mit einem Rest à 2 C-Atome, wobei eine Tricarbonsäure entsteht und die Oxydation der Brenztraubensäure setzt sich fort im bekannten Cyclus von KREBS.



Sind aber Ketonkörper in grosser Konzentration im Gewebe vorhanden, so verbindet sich die Oxalessigsäure mit den Fragmenten à 2 C-Atome, welche aus der Spaltung der Acetessigsäure entstehen und dadurch wird der Abbau der Brenztraubensäure blockiert. Der Ketonkörperabbau benutzt also ein Produkt des Zuckerabbaues, ohne dieses aber zu beseitigen.

In Anwendung des Massenwirkungsgesetzes kann man annehmen, dass bei einer Anhäufung von Brenztraubensäure infolge des blockierten weiteren Abbaues, schliesslich auch der Abbau von Glukose zu Brenztraubensäure aufhört.

Wir haben also eine Erklärung, auf welche Art eine Blockierung des Glukoseabbaues in den peripheren Geweben durch grosse Mengen von Ketonkörpern sich vollziehen könnte.

Durch die Leberglykogenolyse wird dauernd Glukose an das Blut abgegeben. Wenn die periphere Zuckerverwertung blockiert ist, muss konsequenterweise der Blutzuckergehalt ansteigen. Er muss überdies um so rascher ansteigen, je intensiver die Glykogenolyse in der Leber erfolgt. Demnach wird der Blutzuckeranstieg rascher erfolgen, wenn die Leber mit Glykogen voll beladen ist, was mit den Resultaten unserer Experimente übereinstimmt.

Die Höhe des Anstieges der Blutzuckerkurve bleibt aber gleich sowohl im Falle wo die Leber mit Glukose gesättigt ist und die Glukoseabgabe an das Blut intensiv erfolgt, als auch im Falle, wo die Leber wenig Glykogen enthält und der Glukoseabfluss aus der Leber ins Blut langsamer vor sich geht. Denn wir können uns leicht vorstellen, dass oberhalb einer gewissen Höchstkonzentration an Glukose im Blut, der Abbau der Brenztraubensäure zum Teil wieder erzwungen wird.

Sinkt die Acetonkonzentration in den Geweben durch Ausscheidung und Abbau, so wird von einem gewissen Moment an eine sehr intensive Umsetzung der angestauten Zwischenprodukte des Zuckerabbaues einsetzen, wodurch der Blutzuckergehalt selbst unter sein ursprüngliches Niveau absinken kann.

Die Hypothese eines solchen Mechanismus, den wir hier auseinandergesetzt haben, besitzt auch sein gewisses Interesse im Hinblick auf pathologische Ketosisformen, im Coma diabeticum zum Beispiel. Wir finden hier manchmal Acetonkonzentrationen, welche durchaus auf die periphere Zuckerverwertung Einfluss haben könnten.

Man kann mit Hilfe der Insulin-Glukose-Therapie des Coma diabe ticum die Entstehung von Brenztraubensäure im Intermediärstoffwechsel befördern, sodass die Oxydationsprozesse erneut zu Gunsten des Brenztraubensäureabbaues orientiert werden. Doch sind enorme Dosen von Insulin und Glukose notwendig, bis eine derartige Orientierung lediglich auf Grund des Massenwirkungsgesetzes erzwungen wird. Hätte man eine Möglichkeit, gleichzeitig die Brenztraubensäurekonzentration zu erhöhen und ihren Abbau zu erwirken, so hätte man vielleicht auch eine Möglichkeit, die Ausscheidung der Ketonkörper zu befördern und die Oxydation der Glukose anzuregen. Es scheint, dass die Cocarboxylase imstande ist, den Brenztraubensäureabbau zu beschleunigen. So haben BOULIN, UHRY, BONFILS und MEYER (17) kürzlich eine Arbeit über die Behandlung der diabetischen Acidoketosis mit der Cocarboxylase veröffentlicht, wobei sich aber ihre Interpretation mit der unseren nicht deckt.

Zusammenfassung

Wir haben das Auftreten einer Hyperglykämie nach peroraler Acetongabe beschrieben. Diese Hyperglykämie tritt auf bei hungernden, glukosegesättigten und nebennierenlosen Tieren. Sie ist ungefähr proportional der verabreichten Acetonmenge.

Wir glauben nicht, dass es sich um eine Adrenalinsekretion als Folge eines unspezifischen schädlichen Agens im Sinne einer Alarmhyperglykämie handelt. Wir haben auch keinen Grund, die Hyperglykämie auf eine gesteigerte Neoglukogenese zurückzuführen. Indessen lassen uns die neueren Mitteilungen über die Beziehungen des Ketonkörper- und Glukoseabbaues daran denken, dass die starke Ueberladung des Organismus mit Aceton eine vorübergehende Hemmung des peripheren Glukoseabbaues und infolgedessen ein Ansteigen des Blutzuckers zur Folge hat.

Résumé

Nous avons montré l'existence chez le rat, d'une hyperglycémie succédant à l'ingestion d'acétone. Cette hyperglycémie survient aussi bien chez l'animal à jeun, chez l'animal surchargé en glucose et chez l'animal surrénalectomisé. Elle est grossièrement proportionnelle à la quantité d'acétone administrée.

Nous ne pensons pas pouvoir l'attribuer à une hyperglycogénolyse due à une sécrétion d'adrénaline consécutive à l'agresion non spécifique produite par l'acétone; nous n'avons aucun argument pour interpréter cette hyperglycémie comme un témoin d'une hypernéoglycogénèse provoquée directement ou indirectement par l'acétone. Par contre les notions actuellement acquises sur les rapports entre la dégradation des glucides et des corps cétoniques nous conduisent à penser que la forte surcharge en acétone de l'organisme détermine une inutilisation temporaire des hydrates de carbone par les tissus et de ce fait déclenche une hyperglycémie transitoire.

Anhang

Die Mikromethode der Blutzuckerbestimmung nach HERBAIN-CASTAIGNE

Da im Augenblick der Mitteilung unserer Versuche die von uns benutzte Zuckerbestimmungsmethode noch nicht veröffentlicht ist, geben wir nachstehend im Einverständnis mit den Autoren eine kurzgefasste Darstellung unserer Arbeitsweise. Für die theoretische Begründung der Methode verweisen wir auf die im Druck befindliche Originalarbeit der Autoren (6,7).

Das Bedürfnis nach einer verfeinerten und trotzdem zuverlässigen Bestimmungstechnik für die Blutglukose ist bei Versuchen an Kleintieren besonders gross, da wiederholte Blutentnahmen bei Ratten leicht zu relativ grossen Blutverlusten führen, welche die physiologischen Verhältnisse stören können. Unsere Versuche in der vorgängig beschriebenen Art waren nur möglich, weil uns eine Mikromethode zur Verfügung stand, welche es ermöglicht, die Glukose in 1/50 ccm Blut zu bestimmen.

Das *Prinzip* des Verfahrens ist das folgende :

Das Blut wird mit Kupfersulfat, Natriumwolframat und Bariumchlorid enteiweisst und der entstandene Niederschlag abzentrifugiert. Eine abgemessene Menge der überstehenden Flüssigkeit wird dekantiert und mit einer ebenfalls abgemessenen Menge eines ferricyankalihaltigen Reaktivs auf dem kochenden Wasserbad erhitzt. Dabei reduziert die Glukose des Blutes einen Teil des Ferricyankali zu Ferrocyankali. Bringt man hernach ein eisenhaltiges Reaktiv dazu, so entsteht Berlinerblau. Die Intensität der Farbe ist proportional der Glukosemenge und wird elektrophotometrisch gemessen. Durch Ablesen an einer Eichkurve lässt sich der Glukosegehalt des Blutes bestimmen.

Es werden an *Reaktiven* gebraucht :

1. Kupfersulfatlösung 7%ig (Mutterlösung)
   $CuSO_4 + 5\ H_2O$ pur. 7,0 g
   Aq. dest. ad 100,0 ccm
   Monatelang haltbar.

2. Natriumwolframatlösung 1,4%ig :
   $Na_2WO_4 + 2\ H_2O$ pur. 1,4 g
   Aq. bi-dest. ad 100,0 ccm
   Ca. 10 Tage haltbar.

3. Bariumchloridlösung 1%ig:
   $BaCl_2$ pur. sicc. 1,0 g
   Aq. bi-dest. ad 100,0 ccm
   Monatelang haltbar.

4. Ferri-ferrocyankalilösung:
   Na_2CO_3 puriss. sicc. 2,0 g
   $Fe(CN)_6K_3$ pur. 0,165 g
   $Fe(CN)_6K_4$ pur. 0,030 g
   Aq. bi-dest. ad 250,0 ccm

Die Salze sind genau zu wägen und dann in ca. 80 ccm *bi*-destilliertem Wasser kalt zu lösen. Nach dem Zentrifugieren und Dekantieren wird bis 250ccm bi-destilliertes Wasser zugegeben. Das Reaktiv soll erst 24 Stunden nach seiner Herstellung gebraucht werden. Es ist in einer Flasche mit Glaszapfen bei völliger Dunkelheit aufzubewahren und bei der Entnahme (durch Dekantieren) möglichst nicht zu bewegen. Wenn die Leerversuche untereinander mehr als 5 % variieren, ist das Reaktiv neu zu bereiten.

5. Eisenphosphatlösung:
   $Fe(CN)_6K_3$ pur. 0,2 g
   H_3PO_4 85%ig D: 1,71 23,5 g
   (oder H_3PO_4 78%ig D: 1,61 25,6 g)
   Aq. bi-dest. ad 500,0 ccm

Die Phosphorsäure wird in einem 200 ccm-Erlenmeyerkolben gewogen und zusammen mit ca. 100 ccm *bi*-destilliertem Wasser zum Kochen gebracht. Dann wird Tropfen für Tropfen einer verdünnten Kaliumpermanganatlösung (1 Teil gesättigte Kaliumpermanganatlösung + 19 Teile H^2O dest.) dazugegeben, bis eine schwache Rosafarbe ca. 30 Sek. bestehen bleibt. Hernach kühlen wir auf Zimmertemperatur ab und setzen die Ferricyankalikristalle zu. Nach deren Auflösung in der Kälte verschliessen wir den Kolben mit einem rohen Wattepfropf und stellen die Lösung ins siedende Wasserbad, wo wir sie belassen bis zur völligen Entfärbung (ca. 30 — 45 min.) Nach dem Abkühlen wird bis 500 ccm *bi*-destilliertes Wasser zugegeben und dann durch ein aschenloses Filter filtiert.

Auzgezeichnete Haltbarkeit.

Es ist von Wichtigkeit, dass zur Herstellung der Reaktive nur allerreinste Chemikalien gebraucht werden, und ebenso ist auf die Zubereitung des bi-destillierten Wassers besondere Sorgfalt zu verwenden.

Das bi-destillierte Wasser wurde von uns in einer einfachen gläsernen Destillieranlage mit Rückflusskühler hergestellt. Wir füllen 4 Liter destil-

lierten Wassers ins Kochgefäss, geben dazu 0,5 g Kaliumpermanganatkristalle und 10 ccm konz. chemisch reine Schwefelsäure (D : 1,83) und einige Siedesteine. Die ersten 800 ccm bi-destillierten Wassers werden weggegossen, die nächsten zwei Liter als brauchbar aufgefangen, der Rest wieder weggegossen. Aufbewahrung in einer Glasflasche mit Baumwollpfropfen. Brauchbarkeit ca. eine Woche.

Die *Technik* der Blutzuckerbestimmung ist relativ einfach :

Von der 7%igen Kupfersulfatmutterlösung stellen wir ex tempore eine 100fache Verdünnung her (mit *bi*-destilliertem Wasser!). Von dieser 0,07%igen Kupfersulfatlösung geben wir exakt je 2 ccm in soviele Hämolyseröhrchen von 12 x 60 mm als wir Blutproben anstellen wollen und dann noch in drei weitere, welche als Leerversuche ohne Blut verwendet werden. Wir entnehmen das zu untersuchende Blut aus der Schwanzspitze der Ratte mit einer präzisen Mikropipette (die 20 cmm fassende Pipette zum SAHLI-Hämoglobinometer eignet sich vorzüglich) und bringen es in die Kupfersulfatlösung. Durch wiederholtes Aufsaugen und Ausblasen wird die Pipette ausgewaschen. Das unverschlossene Röhrchen wird wiederholt geschüttelt bis eine homogene Blutaufschwemmung erreicht ist, die kein Blutgerinnsel enthalten soll. Wir lassen das Kupfersulfat mindestens 5 min. auf das Blut einwirken, es kann das Blut aber auch z. B. während einer fortlaufenden Zuckerbestimmung mehrere Stunden in der Kupfersulfatlösung belassen werden, ohne dass sich der Glukosegehalt ändert.

Sind die Blutentnahmen beendigt, so geben wir in alle Röhrchen, auch in die Leerversuche, 0,4 ccm der 1,4%igen Natriumwolframatlösung und schütteln mehrmals sorgfältig ohne die Röhrchen zu verschliessen bis zur Homogenisierung. Wir warten wieder 5 min. und bringen dann in jedes Röhrchen 0,1 ccm der 1%igen Bariumchloridlösung. Die Röhrchen werden jetzt mit Gummizapfen verschlossen und wiederholt kräftig geschüttelt.

Nach 5 min. entfernen wir die Gummizapfen und zentrifugieren die Röhrchen 5 min. bei 4000 U./min.

Unterdessen entnehmen wir durch Dekantieren mit einer Pipette und möglichst ohne die Flasche zu bewegen, die nötige Menge des Ferri-Ferrocyankalireaktivs und bringen sie in einen kleinen Erlenmeyerkolben, den wir zur guten Durchmischung mehrmals umschwenken. Wir stellen soviele geeichte 10 ccm-Glaskölbchen bereit als wir Versuchsröhrchen (incl. Leerversuche) haben, und bringen in jedes mittelst einer Präzisionspipette mit *zwei* Eichstrichen ganz exakt je 2 ccm des Ferriferrocyankalireaktivs Aus dem zentrifugierten Hämolyseröhrchen entnehmen wir sodann exakt 1 ccm der überstehenden klaren Flüssigkeit durch Dekantieren und geben ihn zu dem Ferriferroreaktiv ins 10 ccm-Glaskölbchen. Zu dieser Manipulation ist eine präzise Pipette mit *einem* Eichstrich notwendig. Wir tauchen sie einige Millimeter in das Zentrifugat ein und aspirieren mit Hilfe eines mit dem Finger abklemmbaren Gummischlauches, um jeden Rückfluss auf dem Bodensatz zu vermeiden.

Zum Schluss bringen wir in jedes Glaskölbchen 3 ccm *bi*-destillierten Wassers, wobei der Hals des Kölbchens sorgfältig auszuspülen ist. Wir schütteln die Kölbchen ohne sie umzudrehen und verschliessen sie gut mit Propfen aus roher Watte.

Alle Kölbchen werden nun 15 min. ins siedende Wasserbad gestellt und nachher in einem Wasserbad von 20 Grad wieder abgekühlt. Ist dies geschehen (nach ca. 10 min.) füllen wir die Kölbchen bis zum Eichstrich mit der Eisenphosphatlösung auf und stellen sie in ein Wasserbad von genau 20 Grad C.

60 min. nach Einfüllen der Eisenphosphatlösung messen wir die Farbintensität für jeden Kölbcheninhalt in einem Elektrophotometer.

Für unsere Versuche benutzten wir den Elektrophotometer nach P. MEUNIER. Zur Messung gossen wir einen Teil des Kölbcheninhaltes in eine Cuvette von 5ccm Fassungsvermögen bei einer Schichtdicke von 1 cm und schalteten das Rotfilter 7 0 ein. Die Cuvette wurde nach jeder Messung mit hydrophiler Watte ausgerieben, dann mit destilliertem Wasser und schliesslich noch mit einem Teil der nächstfolgenden Flüssigkeitsprobe ausgespült.

Wenn alle Chemikalien und das *bi*-destillierte Wasser genügend rein sind und die Zeit- und Temperaturvorschriften genau eingehalten werden, soll in der Cuvette bei durchfallendem Licht keine Spur von Ausflockung zu sehen sein.

Da mit Ferriferrocyankalireaktiv auch in die Leerversuche eine geringe Menge von Ferrocyankali gebracht wird, zeigen auch sie eine leichte Blaufärbung. Der mittlere Wert N_0 der Leerversuche (angegeben in Teilstrichen der Messtrommel des Photometers) abgezogen vom Wert N einer auf Glukose zu untersuchenden Flüssigkeit (ebenfalls ausgedrückt in Teilstrichen der Messtrommel) gibt die Reduktionskraft der untersuchten Flüssigkeit an und gestattet durch Ablesung an einer Eichkurve die Berechnung der Glukosemenge.

Diese Eichkurve ist für jeden Elektrophotometer eigens zu ermitteln.

Wir haben vor Beginn unserer Versuche die Eichkurve nach folgendem Prinzip ermittelt: Ausgehend von reiner, wasserfreier, vorher eine Stunde bei 100 Grad C. getrockneter Glukose, stellten wir mehrere Verdünnungen her, sodass zu den 2 ccm Ferriferrocyankalireaktiv respektiv 5; 10; 20; 22,5 Gamma Glukose gebracht wurden. Wegen der grösseren Genauigkeit nahmen wir die «Enteiweissungsphase» ($CuSO_4$, Na_2WO_4, $BaCl_2$ und Zentrifugation) mit der fünffachen Menge in grossen Zentrifugiergläsern vor, sodass wir von 12,5 ccm Zentrifugat ausgingen, statt von 2,3 ccm. Die Manipulationsvorschriften waren die gleichen wie bei der Mikroausführung.

Im Einzelnen wogen wir 312,5 mg Glukose und lösten sie in genau 100 ccm bi-destillierten Wassers auf. Von dieser Lösung G brachten wir exakt 1 ccm in einen zweiten Messkolben und füllten mit bi-destilliertem Wasser bis genau 100 ccm auf. Diese Verdünnung g enthielt 31,25 Gamma Glukose pro ccm. Wir gaben in die Zentrifugiergläser I bis V und L die nachstehenden Flüssigkeitsmengen:

	I	II	III	IV	V	L
$CuSO_4$-Lg. 0,7 o/o	je 1 ccm					
Glukoselösung g	2 ccm	4 ccm	6 ccm	8 ccm	9 ccm	0
Bidest. Wasser	7 ccm	5 ccm	3 ccm	1 ccm	0	9 ccm
Na_2WO_4-Lg. 1,4 o/o	je 2 ccm					
$BaCl_2$-Lg. 1 o/o	je 0,5 ccm					
Glukose in Gamma im gesamten Zentrifugat	62,5	125	187,5	250	281,25	0
pro ccm des Zentrifugates	5	10	15	20	22,5	0

Je 1 ccm des Zentrifugates wurde in ein geeichtes 10 ccm-Kölbchen zu je 2ccm Ferriferrocyankalireaktiv gebracht und im übrigen gleich verfahren, wie dies oben für die Mikromethode beschrieben wurde. Dem Gefäss L entnahmen wir 3 x 1 ccm, damit wir drei Ablesungen für die Leerversuche bekamen.

Bei der Messung im Elektrophotometer nach MEUNIER erhielten wir die Werte für

$I : N_1 = 224$
$II : N_2 = 264$
$III : N_3 = 304$
$IV : N_4 = 342$
$V : N_5 = 366$

$L_1 : N = 189$
$L_2 : N = 188$
$L_3 : N = 189$

somit $N_0 = 189$

Daraus ergibt sich $N - N_0$ für

$I = 35$
$II = 75$
$III = 115$
$IV = 153$
$V = 177$

In einem später angestellten Versuch ergaben sich noch zwei weitere Werte

für 4 Gamma Glukose $N - N_0 = 31$
für 8 Gamma Glukose $N - N_0 = 64$

(siehe Seite 7)

Errichten wir auf Millimeterpapier eine Ordinate für $N - N_0$ (1 Teilstrich der Trommel des Photometers als 1 mm) und eine Abszisse für die Glukosemengen in Gamma (1 Gamma als 10 mm), tragen die Werte für 4, 5, 8, 10, 15, 20 und 22,5 Gamma Glukose ein, so stellen wir

fest, dass die Punkte ziemlich genau auf einer Geraden liegen, die durch den Ursprung geht (Tafel 7). Diese eingezeichnete Gerade dient als Eichkurve.

Zur Ermittlung des Blutzuckergehaltes in mg % bei einer Blutentnahme von 0,02 ccm ist der mit Hilfe der Kurve abgelesene Gammawert mit 100 zu multiplizieren und durch 8 zu dividieren.

Die Autoren schreiben ihrer Methode eine Genauigkeit von mindestens $\pm$ 5 % zu.

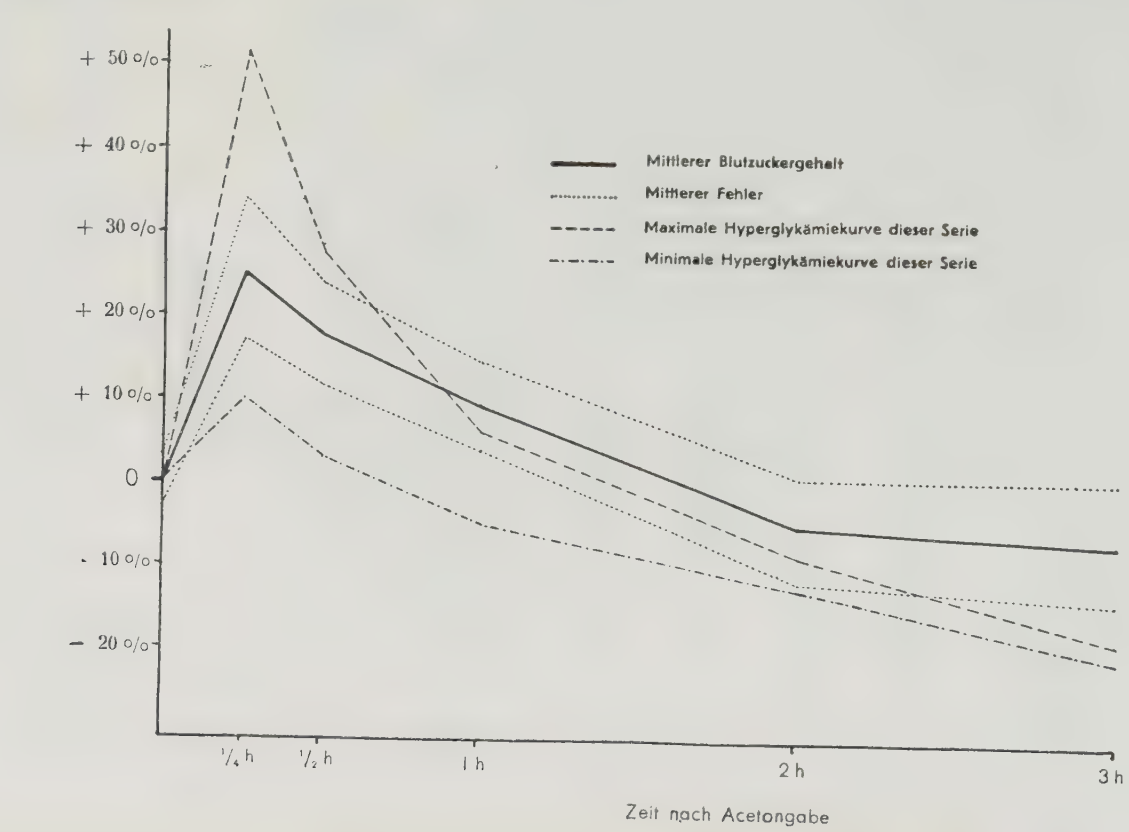
BASEL, 14. September 1949

Literatur

1. MARKEES u. MENCZER: Schweiz. med. Wschr. 1947, No. 31
2. MARKEES: Schweiz. med. Wschr. 1941, No. 14
3. MARKEES u. MENCZER: Schweiz. med. Wschr. 1945, No. 12
4. MARKEES u. MENCZER: Schweiz. med. Wschr. 1946, No. 16
5. P. VALDIGUIE: Contribution à l'étude du Métabolisme des Corps Cétoniques. Perry et Taupiac, Toulouse 1934
6. M. HERBAIN: Sur une réaction céruléoferrique applicable au microdosage du glucose.
   in Bulletin Soc. Chimie Biologique (im Druck)
7. P. CASTAIGNE: L'application du dosage céruléoferrique du glucose aux microprélèvements sanguins.
   in Bulletin Soc. Chimie Biologique (im Druck)
8. CREMER u. RITTER: Zeitschrift für Biologie 1892, 28, 459
9. COOLEN: Arch. de Pharmacodynamie 1895 1, 267
10. LUSK: Amer. J. of Physiol. 1908, 22, 163
11. GURIN, DELLUVA u. WILSON: J. Biol. Chem. 1947, 171, 101
12. LYNEN: Ann. 1942, 552, 270
    Ann. 1945, 554, 40
13. VERTANEN u. SUNDMAN: Biochem. Zeitschrift 1942, 313, 236
14. WIELAND u. ROSENTHAL: Ann. 1945, 554, 241
15. BARNES: Arch. Sc. Physiol. 1948, 2, 221
16. BUCHANAN, SAKAMI, GURIN und WILSON:
    J. Biolog. Chem. 1945, 159, 695
17. BOULIN, UHRY, MEYER und BONFILS: Presse méd. 48, 689 (1949).

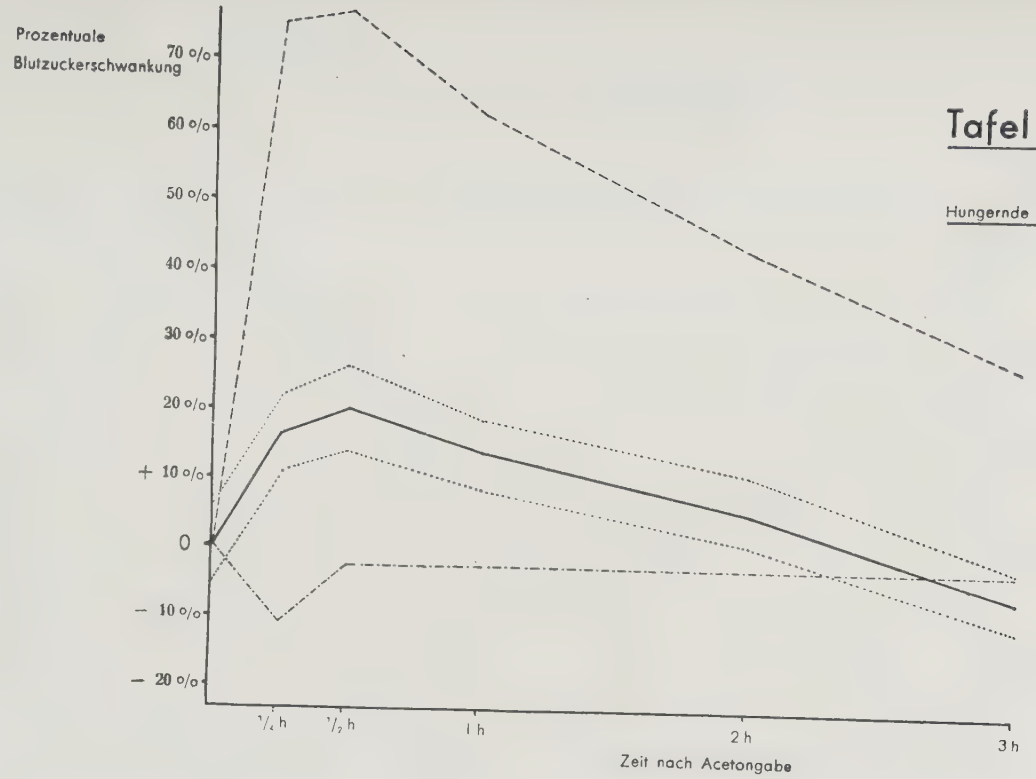
Tafel 1

Glukosegesättigte Tiere



Tafel 2

Hungernde Tiere



Mittlerer Blutzuckergehalt

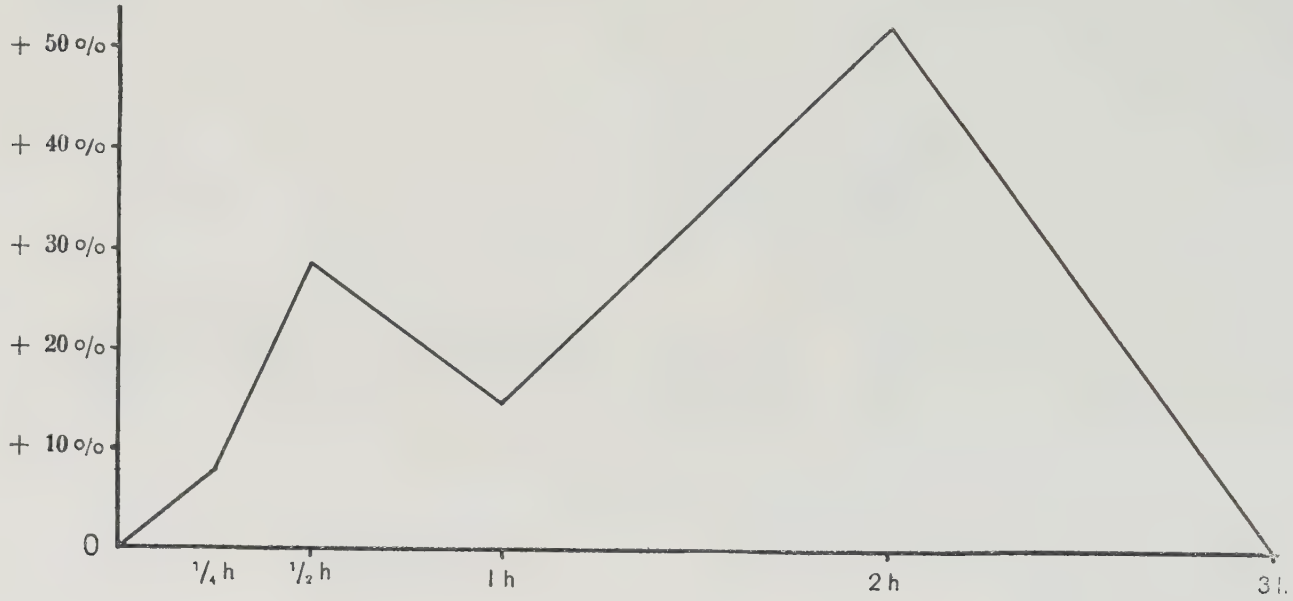
Mittlerer Fehler

Maximale Hyperglykämiekurve dieser Serie

Minimale Hyperglykämiekurve dieser Serie

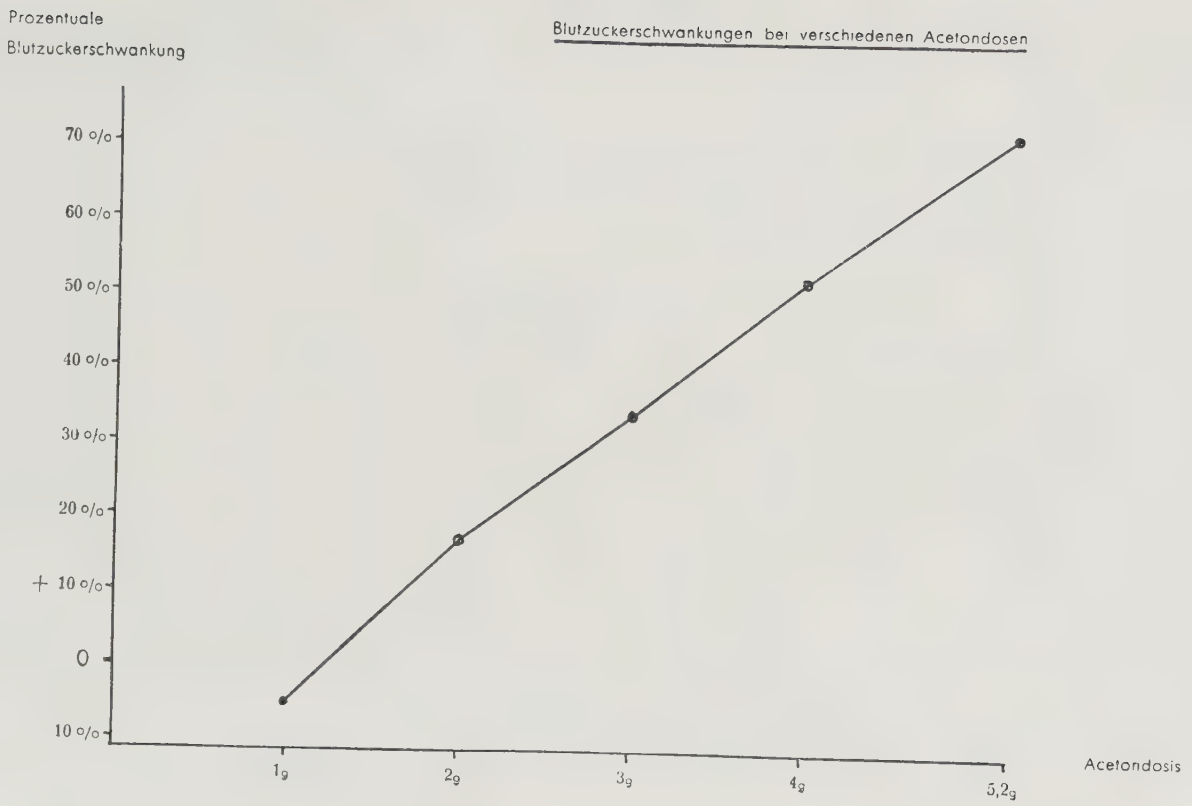
Tafel 3

Prozentuale
Blutzuckerschwankung

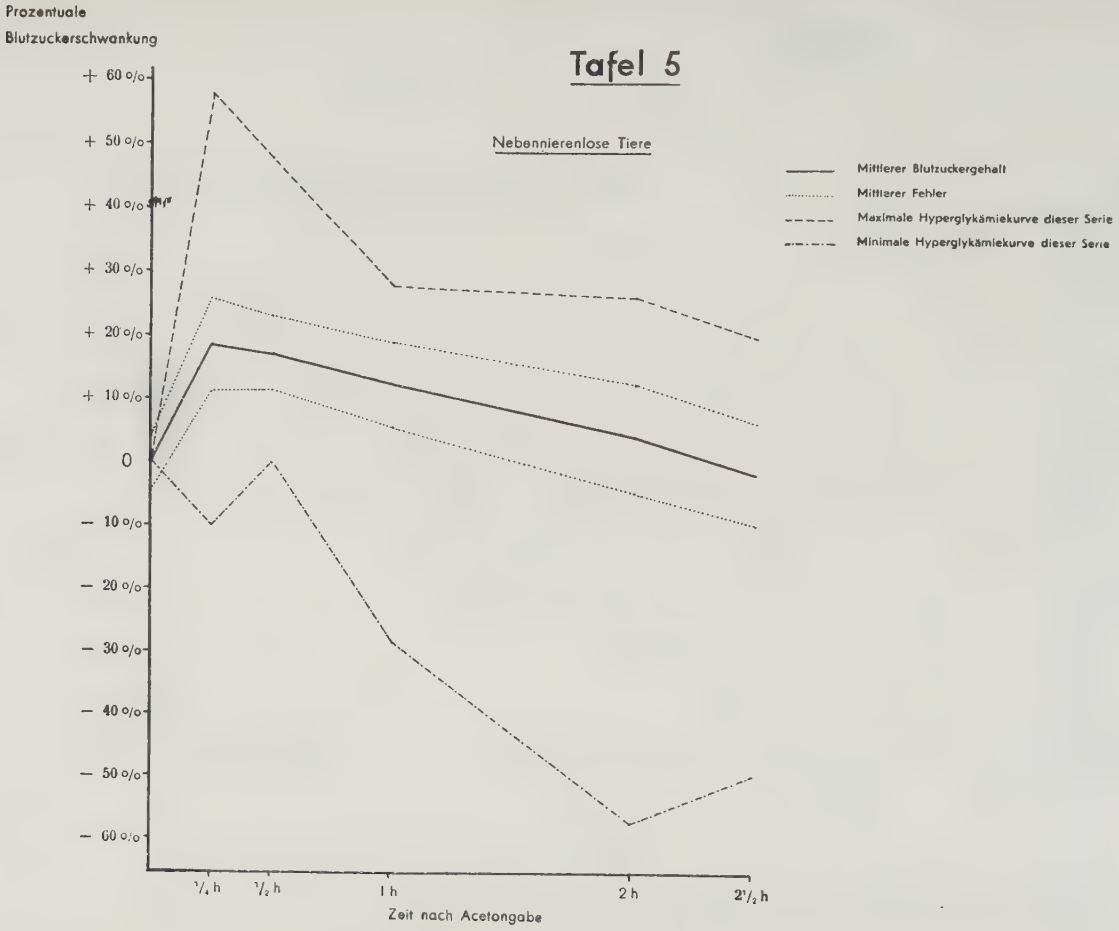


Zeit nach Acetongabe

Tafel 4

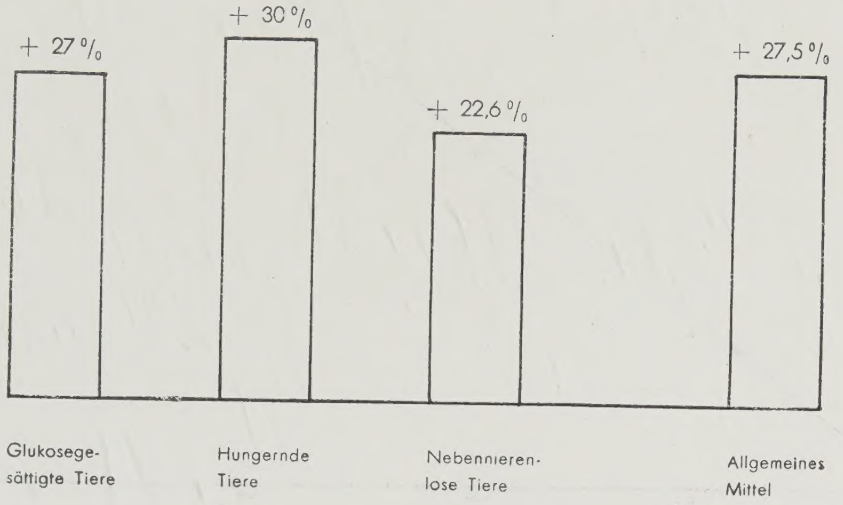

Prozentuale
Blutzuckerschwankung
Blutzuckerschwankungen bei verschiedenen Acetondosen
70 o/o
60 o/o
50 o/o
40 o/o
30 o/o
20 o/o
+ 10 o/o
0
10 o/o
1g
2g
3g
4g
5,2g
Acetondosis

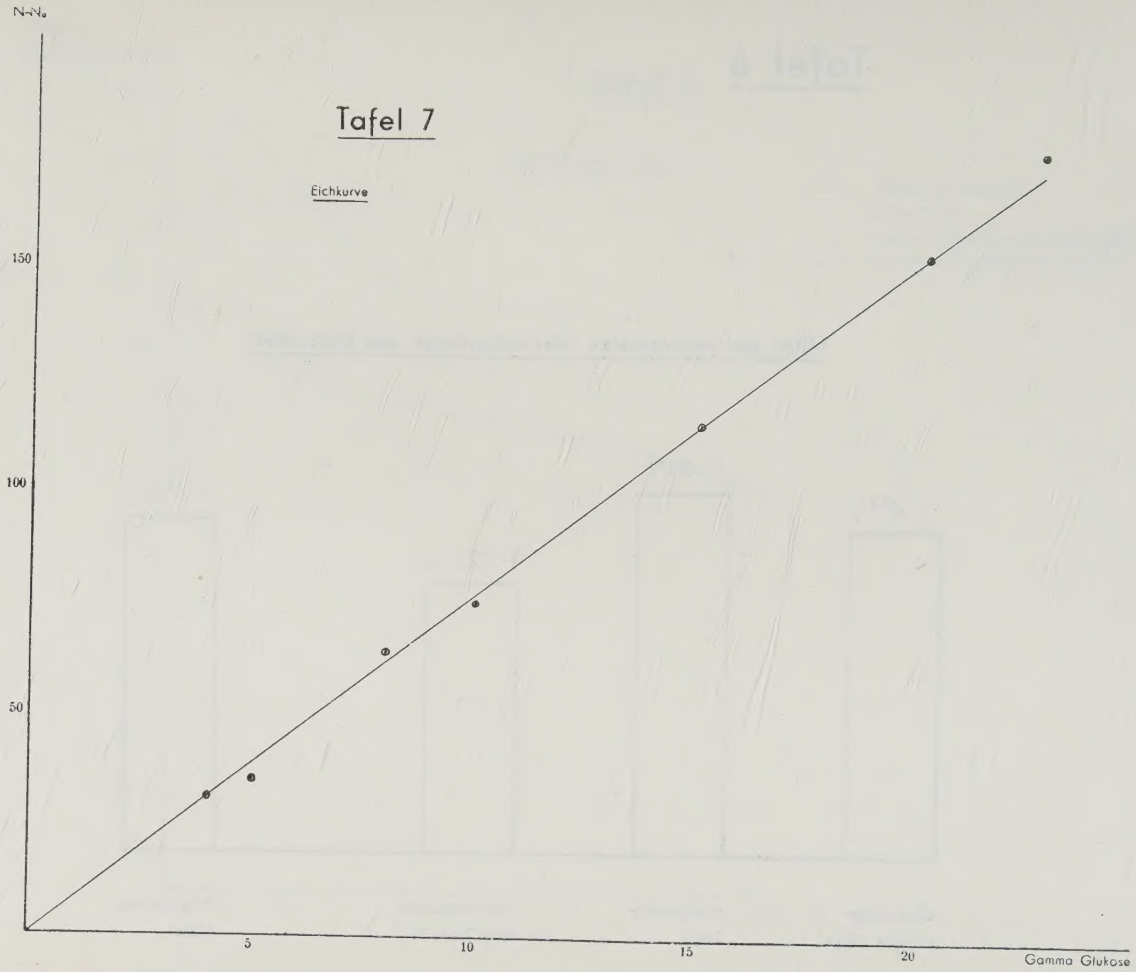
Tafel 5


Prozentuale
Blutzuckerschwankung
Nebennierenlose Tiere
+ 60 o/o
+ 50 o/o
+ 40 o/o
+ 30 o/o
+ 20 o/o
+ 10 o/o
0
— 10 o/o
— 20 o/o
— 30 o/o
— 40 o/o
— 50 o/o
— 60 o/o
¼ h
½ h
1 h
2 h
2½ h
Zeit nach Acetongabe
Mittlerer Blutzuckergehalt
Mittlerer Fehler
Maximale Hyperglykämiekurve dieser Serie
Minimale Hyperglykämiekurve dieser Serie

Tafel 6

Mittel der prozentualen Maximalanstiege des Blutzuckers



Tafel 7

Eichkurve